Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger
Arbeit unter Leitung von PD Dr. K. S. Ludwig

# Die Frühentwicklung der Clavicula beim Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Albert Rudolf Koch
von Basel

1962

BASEL (Schweiz) S. KARGER NEW YORK

Von der Medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. G. Wolf-Heidegger

---

Tag der Promotion: 26. November 1962

---

Erschienen in «Acta Anatomica», vol. 42, Nr. 3, pp. 177–212 (1960)

*Koch, A. R.:* Acta anat. *42:* 177–212 (1960)

Bibliothek Pathologie Zürich

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger

# DIE FRÜHENTWICKLUNG DER CLAVICULA BEIM MENSCHEN[1]

Von ALBERT RUDOLF KOCH

## *Einleitung*

In der Literatur über die Frühentwicklung der menschlichen Clavicula werden vielfältige, zum Teil einander widersprechende Befunde mitgeteilt: Man diskutiert die Verknöcherung auf desmalem Wege; dieser wird die chondrale Ossifikation gegenübergestellt; oder man zieht die gemischte Knochenbildung in Betracht. Zudem versuchen weitere Forscher, auf eine eigene Art zum Ziele zu kommen.

Der Grund für diese auseinandergehenden Meinungen liegt vor allem in der Tatsache, daß das Gewebe, das in einer bestimmten Zeitspanne der Claviculaentwicklung in der Diaphyse auftritt, noch keine definitive Einordnung gefunden hat, die seinem Charakter entspräche. Ausdrücke, wie «Vorknorpel», «vesikulöses Gewebe», «Pseudoknorpel», oder «Tissu fibrocartilagineux» und ähnliche, zeigen deutlich, wie schwer es ist, dieses Gewebe eindeutig zu charakterisieren. Erwünscht ist eine Abklärung gewiß auch darum, weil diese sich widersprechenden Angaben in den Lehr- und Handbüchern immer wieder Verwirrung stiften (*Toldt* [1882]; *Gegenbaur* [1883]; *Keibel und Mall* [1910]; *Corning* [1925]; *Bonnet und Peter* [1929]; *Rauber-Kopsch* [1940]; *Clara* [1949]; *Patten* [1953]; *Hamilton, Boyd und Mossman* [1956]).

Wir haben uns daher die Frage gestellt, ob es nicht mit Hilfe histochemischer Reaktionen und unter Anwendung von spezifischen Färbungen möglich wäre, die Eigenart der bei der Histogenese der menschlichen Clavicula beteiligten Gewebe zu erfassen. Weil neben der Klärung der Histogenese auch noch die Frage des typischen oder atypischen Verknöcherungsmodus zu beantworten ist, haben wir Vergleichsobjekte gesucht, bei denen ein eindeutiger Ossifikationstypus vorliegt:

Für den desmalen Verknöcherungsmodus wählten wir als Vergleich die Mandibula, die den Vorteil hat, daß sie sich fast gleichzeitig mit der Clavicula entwickelt. Um eine Vergleichsmöglichkeit mit chondral verknöchernden Skeletteilen zu haben, untersuchten wir noch die Knorpelbildung und Ossifikation beim Wirbelkörper.

---

[1] Die Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von PD Dr. *K.S. Ludwig* ausgeführt.

Es sollen aber nicht nur einzelne Phasen der Schlüsselbein-Osteogenese allein betrachtet werden, sondern es lag uns daran, die ganze Frühentwicklung dieses Knochens beim Menschen zu klären.

*Literaturübersicht*

Schon früh wurde dem menschlichen Schlüsselbein eine Sonderstellung in der Skeletentwicklung zugewiesen. In den alten griechischen Medizinschulen beschrieb man die Clavicula als «Osteon protoges» (= Osteon protogenes), d.h. «den als ersten entstehenden Knochen».

Genauere Angaben über die Entwicklung des Schlüsselbeins finden wir jedoch erst bei *Bernard Siegfried Albinus*, der in seinen «Icones ossium foetus humani» (1737) nicht nur exakt die äußere Form des Schlüsselbeines wiedergibt, sondern auch Angaben über den Verknöcherungsvorgang der Clavicula macht (p. 125): «Adeo praecox clavicula est, ut in parvulis abortibus, in quibus in femore, tibia, fibula, humero, ulna, radio, tantum granulum osseum in media longitudine inveni, clavicula non nisi in extremis adhuc cartilaginea fuerit. Atque extrema etiam illa jam cito a trunco osseo absumuntur, ut diu ante maturitatem foetus nulla amplius habeat additamenta cartilaginea. Nec deinde epiphyses habet».

Erst im 19. und 20. Jahrhundert begann man wieder, sich mit den Fragen der Osteogenese eingehender zu befassen. Auf diese Arbeiten beziehen sich ja auch zu einem großen Teil die Angaben über die Entstehung der menschlichen Clavicula in den anatomischen Hand- und Lehrbüchern.

*Bruch* [1853] beschrieb in einer brieflichen Mitteilung an *A. Kölliker* die Entstehung des menschlichen Schlüsselbeines. Dieses soll ohne knorpelige Präformation, als sogenannter «sekundärer Knochen» gebildet werden. Genau gleich verläuft nach *Bruch* auch die Entwicklung und Ossifikation für den Unterkiefer. *Gegenbaur* [1864] hat, durch die Bruchsche Arbeit angeregt, die Entwicklung der Clavicula beim Menschen systematisch untersucht und fand, «daß auch die Clavicula eine knorpelige Anlage nicht entbehrt, die nur in unwesentlicheren Dingen von den Knorpeln anderer Knochen verschieden ist,...» (*Gegenbaur* [1864], p. 12–13). In seinem 1883 erstmals erschienenen Anatomie-Lehrbuch schreibt er aber, die Clavicula des Menschen habe keine knorpelige Präformation, und der Knochenkern des Corpus entstehe direkt aus «indifferentem Gewebe». Er sagt: «Dieser von allen anderen Knochen abweichende Entwickelungsgang leitet sich von den Beziehungen ab, welche die Clavicula bei den niederen Wirbelthieren besitzt». *Goette* [1877] schreibt über die Bildung des Schlüsselbeines im Schultergürtel bei den Säugern (p. 569): «Die Verknöcherung der Clavicula ist eine indirekte, indem ihr überall ein centraler Knorpel zugrunde liegt...». «... Überall tritt dazu eine periostale Knochenröhre». *Toldt* [1882] teilt mit, daß sich die rein knorpelige Anlage der Clavicula durch besondere Spärlichkeit der hyalinen Grundsubstanz auszeichne. Die Ossifikation beginne mit der perichondralen Phase, der aber bald die enchondrale Verknöcherung nachfolge. *Kollmann* [1898] lehnt auf Grund phylogenetischer Überlegungen eine knorpelige Präformation des Schlüsselbeines ab und spricht von einem «abweichenden Entwicklungsgang». *Kulczycki* [1901] weist in seiner Arbeit, die die Verhältnisse bei den Vögeln beschreibt, nachdrücklich darauf hin, daß Resultate rein vergleichend-morphologischer Untersuchungen nicht ohne weiteres auch für den Menschen gültig sind. Die Clavicula der Vögel entsteht nach diesem Autor allein durch desmale Verknöcherung, beim Säuger hingegen treffe

dies nur für das Corpus claviculae zu. Eine ausführliche Arbeit über die Entwicklung des menschlichen Schlüsselbeines liegt von *Lewis* [1901/02] vor. Die erste Anlage hat dieser Autor bei einem Embryo von 10,5 mm SSL gesehen. Er sagt, sie bestehe hier aus einer «rather poorly defined mass of condensed tissue», die sich vom Acromion bis zum Sternalende der ersten Rippe erstrecke. Den histologischen Charakter dieses Blastems bezeichnet er bei einem Embryo von 16 mm SSL als «a peculiar precartilaginous tissue». Beim 20 mm Stadium heißt es: «The clavicle is composed of cartilage, somewhat different in appearance from that in other bones». Zusammen mit *Bardeen* konnte *Lewis* diese Befunde bestätigen (*Bardeen und Lewis* [1091/02]). *Hertwig* [1906] stellt die Ansichten *Goettes* [1877] und *Gegenbaurs* [1883] zur Diskussion und scheint selber die These der «Knochenbildung aus indifferentem Gewebe» von *Gegenbaur* für die richtige zu halten. *Braus* [1906] äußert sich vorsichtig dahin, daß die Clavicula eine Sonderstellung einnehme und verweist auf die Arbeiten von *Goette* [1877] und *Gegenbaur* [1864]. Er sagt (p. 268): «Das größte Postulat ist hier eine mit modernen Hilfsmitteln durchzuführende vergleichende Untersuchung des histogenetischen Aufbaues der Clavicula». Es zeigt sich also immer und immer wieder, und schon *Kulczycki* [1901] betonte dies, daß mit phylogenetischen, vergleichend-morphologischen Überlegungen allein das Problem der Claviculaentwicklung beim Menschen nicht zu lösen ist.

*Mall* [1906] spricht von einer Claviculaanlage, die, wie dies schon *Poirier* [1890] erwähnt hat, aus zwei getrennten, später verschmelzenden Verknöcherungszentren bestehen soll. Bei einem menschlichen Embryo von 20 mm SSL besteht das Gebilde nach seinen Untersuchungen aus «a peculiar cartilage with a deposit of granules between the cells. The appearance is unlike that seen in the mandible or in the humerus» (p. 452). *Krause* [1909] erwähnt die Befunde *Gegenbaurs* [1883] und sagt, die Ossifikation sei zugleich das erste Zeichen der Claviculaanlage. Auch die Angaben von *Toldt* [1882] werden zur Diskussion gestellt. *Fitzwilliams* [1910] glaubt, in der hereditären Cranio-cleido-dysostosis Anhaltspunkte zu finden, wie die Clavicula des Menschen entstehen könnte. Er kommt zum Schluß, daß die sternalen zwei Drittel knorpelig, das acromiale Drittel aber bindegewebig präformiert sein müssen. *Fawcett* [1913] gibt nach Untersuchungen von menschlichen Embryonen an, daß im bindegewebigen Blastem zwei getrennte Vorknorpelmassen auftreten. «Each mass undergoes independant ossification...». Bei 18–19 mm SSL vereinigen sie sich durch eine Knochenbrücke. Bei 24–27 mm SSL begännen dann, auf Grund von im Vorknorpel aufgetretenem Hyalinknorpel, die enchondrale und perichondrale Verknöcherung. *Hanson* [1920] schreibt: ...«The cells in the early clavicle are clearly not hyaline cells, but a peculiar tissue of which little seems to be known...» und schließt daraus, daß die Clavicula rein dermaler Herkunft sei. *Corning* [1925] beschreibt die Schlüsselbeinanlage des Menschen als aus knorpeligen und bindegewebigen Anteilen zusammengesetzt. Nach den Angaben von *Gegenbaur* [1864] nehme auch «die knorpelige Anlage an der Bildung des Knochens teil; dieser ist also nicht, oder wenigstens nicht ausschließlich, ein Bindegewebsknochen» (*Corning* [1925] p. 216). *Bonnet und Peter* [1929] sagen (p. 393): «Am Schultergürtel verknöchert beim Menschen schon in der sechsten Embryonalwoche die Clavicula von ihrer bindegewebigen Mitte aus und vergrößert sich durch knorpeligen und dann ossifizierenden Zuwachs rasch». *Fischel* [1929] bemerkt (p. 744): «Eine besondere Stellung nimmt die Clavicula ein, bei welcher sich zwar kein hyaliner Knorpel bildet, bei welcher aber die Verknöcherung nicht unmittelbar aus dem

Bindegewebe, sondern erst dann erfolgt, nachdem dieses Bindegewebe eine dem Vorknorpel ähnliche Beschaffenheit angenommen hat». *Schaffer* [1930] teilt mit, daß das Corpus claviculae durch desmale Ossifikation gebildet werde. Am sternalen und acromialen Ende des Schlüsselbeins beschreibt er «accessorische, sekundäre Knorpelbildungen». Ihre Entstehung bei Knochen, die sich auf rein bindegewebiger Grundlage entwickeln, sei ohne Zusammenhang mit Primärknorpel, örtlich individuell, bleibend oder vorübergehend und den funktionellen Verhältnissen angepaßt. *Fazzari* [1934] untersuchte die Histogenese der menschlichen Clavicula. Sie entstehe durch desmale Ossifikation. Der Knorpel, der sich beim Beginn der Entwicklung unter «phylogenetischem» Einfluß bildet, sei ein sekundärer. *Fazzari* sagt, es bestehe keine klare Trennung zwischen den verschiedenen bekannten Verknöcherungstypen und der Schlüsselbeinossifikation und spricht von einer auf einzelne Herde lokalisierten «metaplastischen Ossifikation». *Florentain und Castelain* [1935] bezeichnen das Gewebe, das im axialen Teil des Corpus claviculae auftritt und das von einer Periostknochenmanschette umfaßt wird, als «baguette axiale d'un tissue comparable à du fibro-cartilage». Bei der Markhöhlenbildung werde dieser «Faserknorpel» bis auf wenige Bälkchen, die stehen bleiben, resorbiert. *Spalteholz* [1939] gibt an, daß die erste Entwicklung der Clavicula unmittelbar aus Vorknorpel erfolge; «die weiteren Verknöcherungsvorgänge spielen sich aber auch bei diesem Knochen auf knorpeliger Grundlage ab» (p. 144). Im Werk von *Rauber-Kopsch* [1940] wird die Ansicht vertreten, daß die Diaphyse der Clavicula in der sechsten Fetalwoche durch bindegewebige Verknöcherung entstehe. Das Längenwachstum erfolge unter Knorpelansatz an beiden Enden. *Feremutsch* [1946] bearbeitete in seiner Dissertation die Schlüsselbeinhistogenese bei Microcebus murinus (= Mausmaki). Er beginnt mit der desmalen Bildung am Anfang der Entwicklung und beschreibt später ein im zentral-axialen Anteil des Corpus auftretendes «vesiculöses Gewebe» (es soll sich dabei um Knochengewebe desmaler Herkunft handeln), das bis zur Schaffung des primären Markraumes bestehe. *Clara* [1949] bemerkt bei der Besprechung der Entwicklung des Skeletsystems (p. 195): «Eine besondere Stellung nimmt das Schlüsselbein ein; dieses bildet sich nämlich nicht aus Knorpel, verknöchert aber auch nicht unmittelbar aus dem Bindegewebe, weil das Bindegewebe eine dem Vorknorpel ähnliche Beschaffenheit annimmt». Nach *Zawisch* [1953] treten in der ersten Anlage des menschlichen Schlüsselbeines in einem von acromial bis sternal ziehenden Blastemstreifen drei Osteoblastenknoten auf, die einen sogenannten «Chondroidknochen» bilden. Dieses Stadium wird bei einem Embryo von 20 mm SSL als «endodesmal-osteoblastisch» bezeichnet. In der zweiten Periode, der «pseudochondroblastischen Periode», tritt ein als «Pseudoknorpel» benanntes «hyalinzelliges Chondroidgewebe» auf. Eine weitere Umstimmung führt dann die appositionelle Bildung von echtem Knorpel herbei, der für die dritte, «chondroblastische» Periode signifikant sein soll. Jeder dieser drei Perioden wird ein entsprechendes Ausbildungsstadium gleichgesetzt: nämlich der ersten Periode das Anlagestadium, der zweiten das Wachstum und der dritten das Reifungsstadium der Clavicula.

### *Material und Technik*

Für unsere Untersuchungen standen uns einesteils die Schnittserien menschlicher Embryonen des Basler Anatomischen Institutes zur Verfügung, anderenteils arbeiteten wir frisches Material besonders für histochemische Zwecke auf.

Von den Serien aus der Institutssammlung benutzten wir vorwiegend die folgenden Stadien:

12 mm SSL, quer; 15 mm SSL, quer; 18 mm SSL, quer; 22 mm SSL, quer; 25 mm SSL, frontal; 28 mm SSL, quer; 31 mm SSL, quer; 32 mm SSL, frontal; 33 mm SSL, quer; 38 mm SSL, quer.

Die Embryonen sind alle lebensfrisch in Bouin fixiert, in Paraffin eingebettet und zu Serien von 6, 7 oder 8 $\mu$ Schnittdicke verarbeitet worden; sie sind fast durchwegs mit Azan gefärbt. Beim 32-mm-SSL-Stadium wurde neben der Azanfärbung die Methylgrün-Pyronin-Methode nach *Unna* (*Romeis* [1948], § 723) durchgeführt.

Bei frischen, operativ gewonnenen Embryonen von 40 mm, 42 mm, 46 mm, 59 mm und 68 mm SSL haben wir die Claviculae herauspräpariert und sofort entweder in Susa oder einem modifizierten Davidson-Gemisch (*Klinger und Ludwig* [1957]) oder 96%igem Alkokol fixiert. Wo nötig, wurde die Entkalkung in einem Ameisensäure-Salzsäure-Gemisch (*Richman, Gelfand und Hill* [1947]) zwischengeschaltet. Die Einbettung erfolgte in der üblichen Weise über Methylbenzoat und Benzol in Paraffin. Diese isolierten Schlüsselbeine haben wir ebenfalls in lückenlose Schnittserien zerlegt, wobei die Schnittdicke in der Regel 7 $\mu$ betrug.

Die Schnittrichtung wählten wir parallel zur Längsachse des Skeletstückes, um möglichst übersichtliche Präparate zu erhalten.

Von diesen Schnittserien färbten wir alternierend je einen Objektträger nach folgenden Verfahren:

1. *Azanfärbung* nach *Heidenhain* (*Romeis* [1948] § 1489).

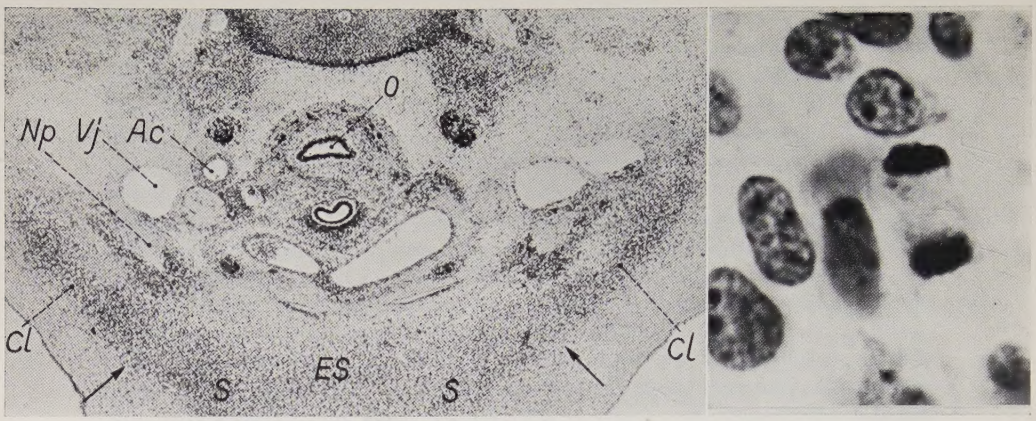
2. *Thioninfärbung* nach der Methode, wie sie *Klinger und Ludwig* [1957] für die Darstellung des Geschlechtschromatins beschrieben haben. Die für unsere Zwecke unnötige Hydrolyse in 5-n HCl bei 20–25°C wurde jedoch weggelassen.

3. *PAS-Reaktion* kombiniert mit einer Kernfärbung durch saures Haemalaun nach *P. Meyer* (*Romeis* [1948] § 651). Diese *P*(erjodic) *A*(cid) *S*(chiff)-Reaktion führten wir nach Angaben von *Lison* [1952] durch.

Mit der Thioninfärbung und der PAS-Reaktion bezweckten wir ein Hervorheben des Knorpelgewebes. Bei der Thioninfärbung achteten wir auf das Vorhandensein einer Metachromasie (*Gomori* [1952]; *Lison* [1953]; *Kelly* [1956]), die PAS-Reaktion benutzten wir zur Darstellung der «chondromucoiden Substanzen» (*Lison* [1953]; *Pearse* [1953]).

## *Befunde*

Bei Embryonen von 12 bis 16 mm SSL haben sich im Bereich des Schultergürtels die zur topographischen Orientierung wichtigen Gebilde differenziert (vgl. Abb. 1). Im lockeren embryonalen Bindegewebe eingebettet liegen links und rechts die Schlüsselbeinblasteme (Abb. 1:Cl). Sie bilden eine ventral offene konvexe Spange, die durch die Anlagen der Sternalleisten (Abb. 1:S) und durch eine mediane Gewebsverdichtung, die wir nach *Müller* [1906] als Episternalia bezeichnen (Abb. 1:ES), vervollständigt wird. Das sternale Ende jedes Claviculablastems hängt mit den Sternalleistenanlagen durch eine etwas lockerere Gewebsbrücke zusammen (in Abb. 1 mit Pfeilen bezeichnet), die die Anlage der Articulatio sternoclavicularis dar-




1

*Abb. 1.* Embryo Mensch, 15 mm SSL, M.I.Sp. 1940, quer, 6 $\mu$, Azan. Vergr. 30 $\times$. Schnitt 49/1/2. Die beiden Claviculablasteme (Cl) sind durch die lockeren Anlagen der Articulationes sternoclaviculares (Pfeile) mit den Anlagen der Sternalleisten (S) sowie mit denjenigen der Episternalia (ES) verbunden. Dorso-medial von den Claviculablastemen finden sich die Anlagen der Mm. scaleni antt. mit den Nn. phrenici (Np). Dorsal davon liegen die großen Halsgefäße (V. jugularis [Vj], A. carotis communis [Ac]), die zwischen sich den Vagus fassen. Median liegt der Oesophagus (O), ventral davor die Trachea.

*Abb. 2.* Gleicher Embryo und gleicher Schnitt wie bei Abb. 1. Vergr. 640 $\times$. Ausschnitt aus dem Claviculablastem. Die Zellen besitzen locker strukturierte Kerne, in denen sich oft zwei oder mehr Nucleolen finden. Sie vermehren sich noch und beginnen sich abzurunden.

stellt. Das acromiale Ende einer jeden Claviculaanlage ist ebenfalls durch ein etwas lockereres Gewebe, der Anlage der Articulatio acromioclavicularis, mit dem Blastem des Acromion scapulae verbunden, das ganz lateral links in Abb. 1 zu sehen ist.

Die Zellen, die das Schlüsselbeinblastem bilden, unterscheiden sich deutlich von den kleinen, spindelförmigen Elementen des umgebenden embryonalen Bindegewebes. Sie sind größer und haben voluminöse, sehr oft längliche Kerne mit einem oder mehreren Nucleoli (Abb. 2). Die Zellen liegen dicht zusammen. Sie sind deutlich parallel zur Längsachse der Anlage angeordnet. Häufig sind Zellteilungsfiguren anzutreffen. Dies erklärt die Tatsache, daß das Blastem der Clavicula immer zellreicher wird. Bei den älteren Embryonen dieser Gruppe beginnen sich die Zellen etwas abzurunden. Färbbare Interzellularsubstanz ist nicht nachzuweisen.

In der Umgebung des Claviculablastems erkennt man eine Häufung von embryonalen Blutgefäßen.

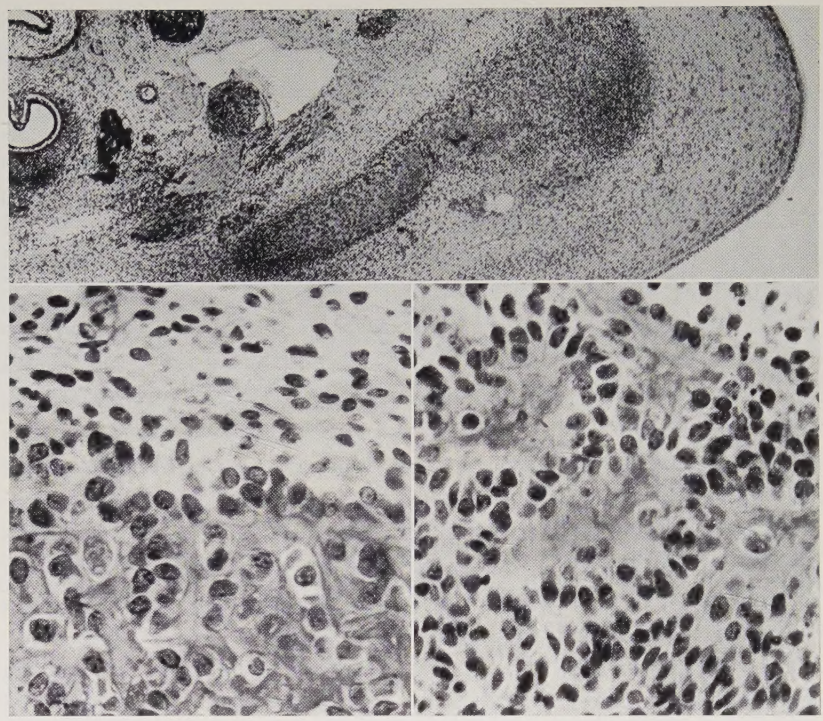
Im Bereich des Unterkieferfortsatzes sind noch keine Anzeichen einer Mandibulaanlage wahrzunehmen. Lediglich die blastematöse Anlage des Meckelschen Knorpels ist medial vom Mandibularast des N. trigeminus sichtbar.

Bei Embryonen von 17 bis 21 mm SSL differenziert sich das Clavicula-Bildungsgewebe weiter aus. Im zentral-axialen Bereich dieses Blastems wird Interzellularsubstanz nachweisbar (Abb. 3, 4). Dabei treten besonders massenhaft feinste kollagene Fasern in den Vordergrund. Diese Fasersysteme anastomosieren untereinander und formen im Zentralteil der Anlage ein weitmaschiges, wabenartiges Gebilde (vgl. Abb. 4). In den Hohlräumen dieses Gerüstes sind jeweils eine bis mehrere, meist zwei bis drei Zellen eingeschlossen. Diese Zellen sind rundlich und besitzen einen großen, hellen bläschenförmigen Zellkern, in dem deutlich ein bis drei Nucleolen sichtbar sind. Die in den Waben des kollagenen Fasergerüstes liegenden Zellen sondern eine hyaline, bei der Azanfärbung blaßblau getönte Grundsubstanz ab. Dadurch werden die kollagenen Faserbündel zu massigeren Bälkchen zusammengebacken (Abb. 4). Bald sind die Zellen und Zellnester von einer dichten, faserreichen Grundsubstanz umhüllt. Auffallend ist hier die säulenartige Ausrichtung der Zellkomplexe im Fasergerüst, sie bilden quer zur Längsachse der Anlage verlaufende Zellzüge (Abb. 4).

Außen auf diesem Wabenwerk findet sich eine Schicht dicht aneinander liegender Zellen, deren Cytoplasma stark basophil ist (Abb. 4; vgl. auch Abb. 3). Sie besitzen große helle Kerne, meistens mit mehreren Nucleolen. Der periphere Anteil ihres Cytoplasmas ist sehr fein granuliert. Mehrere dieser Zellen besitzen juxtanukleäre Vakuolen.

Die äußerste Schicht der Anlage besteht aus spindelförmigen Zellen, die unter sich mit Ausläufern zusammenhängen und parallel zur Längsachse der Claviculaanlage angeordnet sind. Ihre Kerne sind ovoid, die Chromatinstruktur dicht (Abb. 4; vgl. auch Abb. 7).

Kurze Zeit nachdem die hyaline Grundsubstanz aufgetreten ist, verändert sich ihr färberisches Verhalten. Bei der Azanmethode erscheint die Substanz nicht mehr homogen blaßblau gefärbt, sondern der Farbton wird intensiv dunkelblau. Sie wird körnig. Die eingelagerten kollagenen Fasern sind kaum mehr zu erkennen (vgl. Abb. 4 mit Abb. 7). Dieser Vorgang fängt beim Embryo von 18 mm SSL in den peripheren Schichten des Wabengewebes an. Bei den älteren Stadien dieser Gruppe läßt sich das Fortschreiten dieses



3

4 5

*Abb. 3.* Embryo Mensch, 18 mm SSL, Riehen 1942, quer, 6 $\mu$, Azan. Vergr. 35 $\times$. Schnitt 83/3/1. Im Claviculablastem hat sich eine viele kollagene Fasern enthaltende Interzellularsubstanz gebildet. Besonders dicht ist sie stellenweise (auf dem Bild als schwärzliche Flocken) im acromialen Teil der Anlage. Weiter lateral findet sich eine Zellverdichtung, die Anlage des Acromion scapulae.

*Abb. 4.* Gleicher Embryo und gleicher Schnitt wie bei Abb. 3. Vergr. 370 $\times$. Ausschnitt aus der Claviculaanlage. Oben im Bild das Perichondrium, in dem sich eine Gliederung in Stratum fibrosum und Kambiumschicht abzuzeichnen beginnt. Die Interzellularsubstanz der Claviculaanlage zeigt deutlich faserigen Charakter. Die Zellen sind in Reihen angeordnet und liegen einzeln oder in kleineren Gruppen in den Lücken des wabenartigen Fasergerüstes.

*Abb. 5.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 3. Vergr. 370 $\times$. Schnitt 82/4/1. Anlage der Mandibula. Im kleinzelligen Blastem entstehen herdförmige, dichte, interzelluläre kollagene Faserkomplexe. Im Gegensatz zur Claviculaanlage sind hier jedoch nur selten einzelne Zellen in die Fasermassen eingeschlossen worden. Die diesen Fasermassen direkt anliegenden Zellen sind im Begriff, sich epithelartig anzuordnen.

Prozesses gegen zentral-axial verfolgen, so daß beim Embryo von 21 mm SSL die gesamte Interzellularsubstanz der Claviculaanlage sehr intensiv angefärbt wird (vgl. Abb. 3 mit Abb. 6).

Auch die beiden dem Wabenwerk unmittelbar anliegenden

Schichten der Claviculaanlage haben sich inzwischen weitgehend ausdifferenziert. Schon beim Embryo von 19 mm SSL können wir von einer typischen bindegewebigen Hülle mit einer Kambiumschicht und einem Stratum fibrosum sprechen (vgl. Abb. 4 mit Abb. 7).

Gegen das acromiale und sternale Ende der Claviculaanlage gehen alle Anteile derselben in ein zellreiches, noch undifferenziertes Blastemgewebe über (vgl. Abb. 3, 6).

Im Bereich des Unterkieferfortsatzes ist der Meckelsche Knorpel hyalinknorplig geworden. Er wird von einem typischen Perichondrium umhüllt. Lateral davon und unterhalb des N. alveolaris mandibularis findet sich die Anlage der Mandibula. Sie tritt beim Embryo von 17 mm SSL erstmals in Form von herdförmigen Zellverdichtungen in Erscheinung. Inmitten dieser Zellmassierungen, die aber nie das Ausmaß des Claviculablastems erreichen, werden gleichzeitig feine kollagene Fasersysteme gebildet (Abb. 5). Die diesem Faserwerk anliegenden Zellen sind größer als die übrigen Zellelemente der Mandibulaanlage. Einzelne Zellen sind vom Faserfilz allseitig umschlossen. Diese werden nach ihrer Einmauerung kleiner, ihre Form wird ovoid oder spindelförmig. Das Chromatin ihrer Kerne bildet eine dichte, kräftig gefärbte Masse (vgl. Abb. 5, 14).

Auch nach dem Auftreten von kollagenen Fasern und Interzellularsubstanz in der Mandibulaanlage wird diese weiterhin nur von einem lockeren embryonalen Bindegewebe umschlossen, in dem sich aber noch keine weiteren Differenzierungen abspielen, die zu einer Hüllschicht führen könnten (Abb. 5).

Beim Embryo von 22 mm SSL ist die Schlüsselbeinanlage von einer gut ausgebildeten zweischichtigen Gewebslage umhüllt. Die Zellen der inneren Schicht, wir nennen sie sinngemäß «Kambiumschicht», sondern eine mit Anilinblau sehr stark anfärbbare, dichte Interzellularsubstanz auf das darunter gelegene Wabengerüst ab (Abb. 6). Dadurch entsteht peripher ein manschettenartiges Gebilde. Ab und zu werden Zellen aus der Kambiumschicht in diese Interzellularsubstanz eingeschlossen. Diese Zellen werden dann klein, ihr Zellvolumen nimmt ab und ihre Form wird ovoid. Die Zellkerne sind nicht mehr kugelig und hell, sondern spindelförmig und kompakt, dunkel gefärbt.

An den Stellen, an denen diese Manschettenbildung noch nicht begonnen hat, bilden die Zellen der Kambiumschicht einen typischen Saum. Sie sind im Gegensatz zu früheren Stadien etwas kleiner und platter geworden (vgl. Abb. 4 mit Abb. 7).

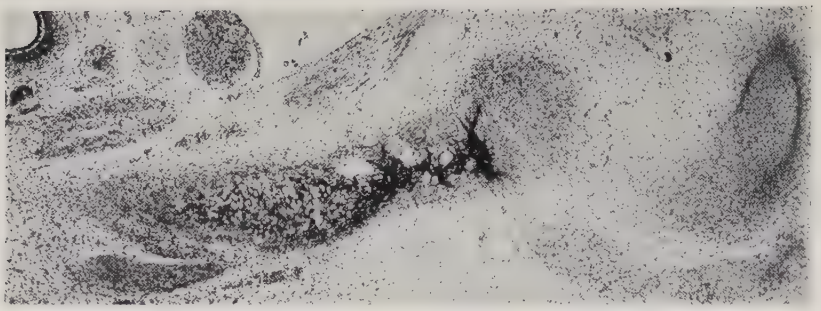


*Abb. 6.* Embryo Mensch, 22 mm SSL, Riehen 1938, quer, 6 $\mu$, Azan. Vergr. 35 $\times$. Schnitt 138/3/1. Die Clavicula ist schief angeschnitten. Gegen das Acromion zu, das hyalinknorplig angelegt ist, ist die perichondrale Knochenmanschette getroffen, gegen das sternale Ende der Wabenknorpel, dessen Grundsubstanz sich wegen der eingelagerten Kalksalze fast so intensiv anfärbt wie die perichondrale Manschette.

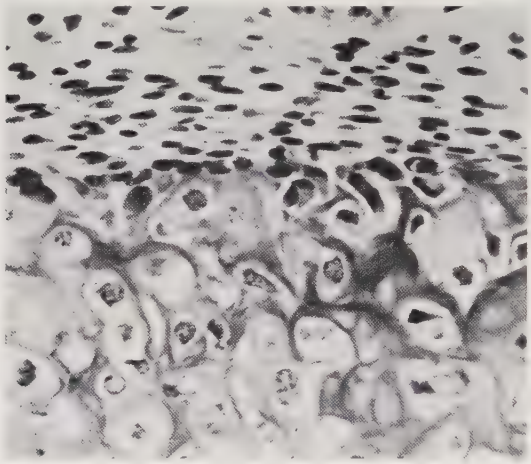


*Abb. 7.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 6. Vergr. 370 $\times$. Schnitt 138/3/2. Ausschnitt aus der Randzone des Wabenknorpels. Die Differenzierung des Perichondriums in zwei Schichten ist deutlich. Der Knorpel ist großblasig geworden, seine Interzellularsubstanz ist faserig und färbt sich stellenweise wegen der Kalkeinlagerungen intensiv an.

Die Zellen im Bereich des Wabengerüstes hingegen sind deutlich größer geworden (vgl. Abb. 4 mit Abb. 7). Die Interzellularsubstanz ist rarifiziert, färbt sich aber viel kräftiger an als in früheren Stadien, wenn auch nicht so intensiv wie in der eben in Bildung begriffenen Manschette (Abb. 6).

Die lateral vom Meckelschen Knorpel gelegene Mandibula ist einheitlich geworden. Sie stellt eine V-förmige Rinne dar. In der Öffnung des V liegt der N. alveolaris mandibularis. Die Interzellularsubstanz der Mandibulaanlage färbt sich stärker an als in früheren Stadien, die darin eingeschlossenen Zellen sind relativ spärlich. Die Oberfläche der Mandibula wird von einem dichten Osteoblastensaum überzogen (vgl. Abb. 14). Das umgebende Bindegewebe zeigt immer noch keine Weiterdifferenzierung, insbesondere ist kein Periost nachweisbar.

Beim Embryo von 25 mm SSL nimmt die Grundsubstanz im wabenartigen Gewebe des axialen Teils der Clavicula noch an Volumen zu. Das kollagene Faserwerk ist jetzt nicht mehr Stütze und Begrenzung des zelligen Anteils, sondern es bildet lediglich einen Teil der Interzellularsubstanz (vgl. Abb. 10). Die gesamte Interzellularsubstanz des Wabengewebes färbt sich intensiv an und ist teilweise körnig. Die in den Wabenräumen eingeschlossenen Zellen sind noch etwas größer geworden. Bei einigen dieser Zellen finden sich regressive Veränderungen wie pyknotische Kerne, Chromatinschollen sowie Fragmentation des Cytoplasmas (Abb. 10).

Dieses axial gelegene, großzellige Wabengewebe der Anlage des Corpus claviculae geht ohne scharfe Grenze sowohl sternal wie acromial in den kleinzelligeren Hyalinknorpel der Epiphysenanlagen über (Abb. 8). In den letzteren finden sich gegen die Oberfläche und die Gelenkanlagen hin platte spindelförmige Zellen, die von typisch hyalinknorpliger Interzellularsubstanz umgeben sind.

Die Manschettenbildung um den Mittelteil der Schlüsselbeinanlage hat sich gegen die beiden Enden hin ausgedehnt und greift schon auf die hyalinknorpligen Epiphysen über (Abb. 8). Die Manschette ist dicht, aber noch sehr dünn und enthält nur wenige spindelförmige kleine Zellen. Von außen her sitzen ihr epithelartig angeordnete Zellen auf, die der Kambiumschicht der bindegewebigen Skelethülle angehören (vgl. Abb. 12). Die äußere Schicht der bindegewebigen Hülle ist nun ein typisches Stratum fibrosum. Von der Hülle ausgehend dringen gefäßhaltige Bindegewebsknospen durch die Manschette in das großblasige Wabengewebe ein (Abb. 9; vgl. auch Abb. 11). Die im Bereich dieser Knospen liegenden Zellen des Wabengewebes zeigen die oben beschriebenen regressiven Veränderungen. Die Zellhöhlen werden von den Gefäß-Bindegewebssprossen eröffnet.

Die Mandibula zeigt außer einer appositionellen Substanz-

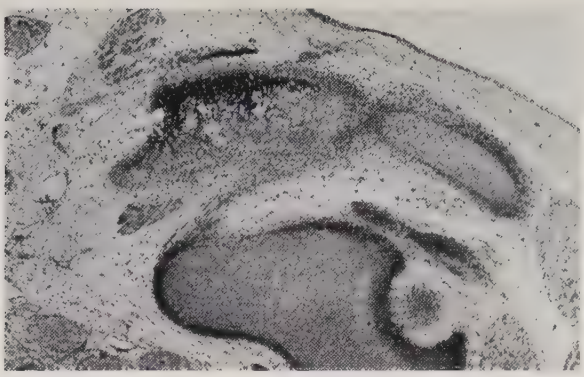
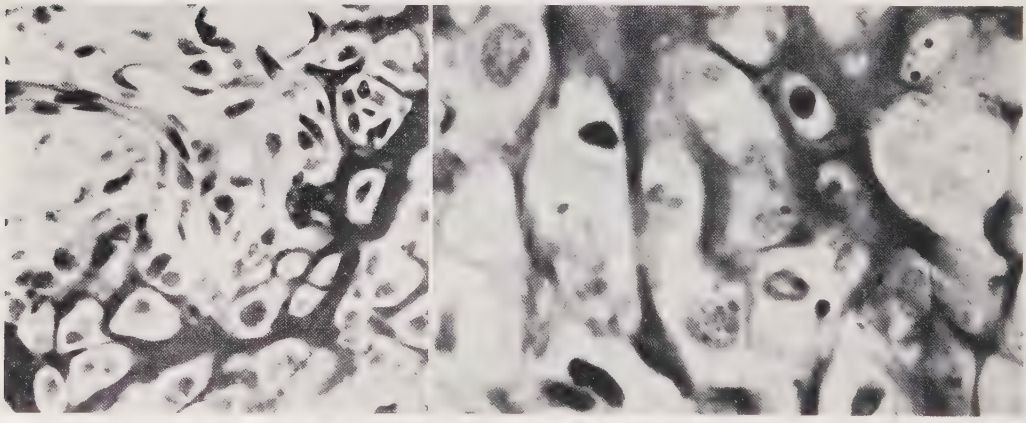


*Abb. 8.* Embryo Mensch, 25 mm SSL, M. I. Sp. 1951, frontal, 6 $\mu$, Azan. Vergr. 35 $\times$. Schnitt 105/3. Das acromiale Ende der Clavicula, das Acromion sowie der Processus coracoides sind vom Schnitt getroffen. Das hyalinknorplige Acromion ist durch das Gelenkblastem vom acromialen Epiphysenknorpel der Clavicula geschieden. Man erkennt in der Clavicula deutlich den kontinuierlichen Übergang des Wabenknorpels in den Hyalinknorpel der Epiphyse. Die intensiv angefärbte perichondrale Knochenmanschette greift acromial schon über die Basis der Epiphyse.



9

*Abb. 9.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 8 Vergr. 370 $\times$. Schnitt 110/2. Eindringen einer gefäßhaltigen Bindegewebssprosse in die perichondrale Knochenmanschette der Clavicula. Gegen den unteren Bildrand zu unter der intensiv gefärbten perichondralen Manschette der in Auflösung begriffene Wabenknorpel.

*Abb. 10.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 8. Vergr. 750 $\times$. Schnitt 135/3. Im verkalkten Wabenknorpel der Clavicula gehen im Bereich der Eröffnungszone die Knorpelzellen zugrunde.

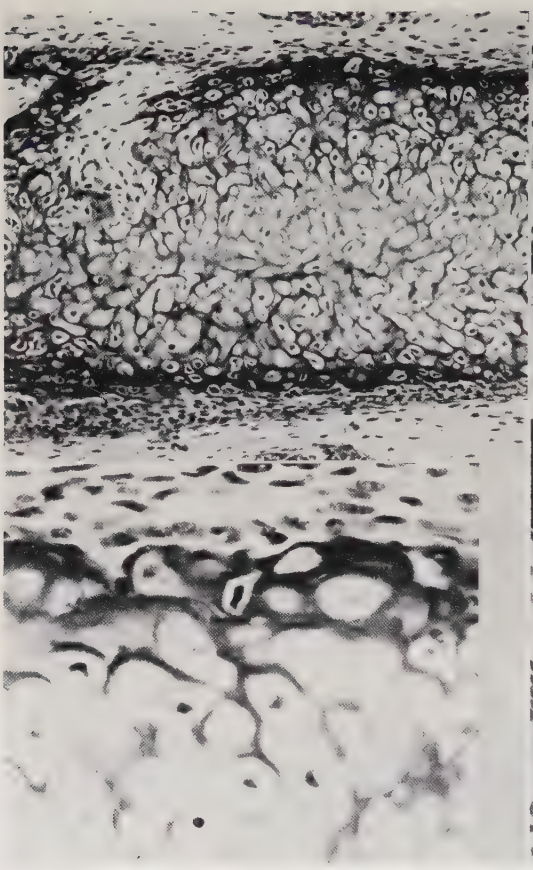
zunahme keine Veränderungen gegenüber dem vorhergehenden Stadium.

Schon bald nachdem die ersten gefäßhaltigen Bindegewebssprossen in das wabenartige Gewebe eingedrungen sind, zeigt dieses im ganzen zentral-axialen Bereich deutliche regressive Veränderungen, besonders an seinen Zellen (Abb. 11). In den Bindegewebssprossen treten nun massenhaft Zellen auf, die ein ganz charakteristisches Aussehen haben (Abb. 13): Ihr Zelleib ist sehr ausgedehnt und besitzt viele zipfelförmige Fortsätze und Ausläufer. Das kräftig gefärbte Cytoplasma ist fein granuliert. Diese Zellen enthalten mehrere längliche Kerne mit deutlichen Nucleolen. Sie liegen breit flächenhaft den Wänden des Wabensystems an. Bei stärkerer Vergrößerung läßt sich an der Kontaktfläche des Cytoplasmas dieser Zellen mit der Interzellularsubstanz des Wabengewebes ein Bürstensaum erkennen.

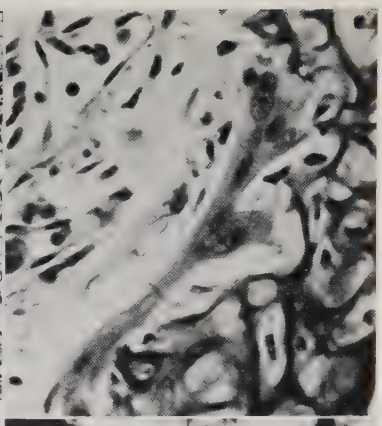
Das Wabengewebe wird in der Folge sehr schnell unter Bildung eines primären Markraumes abgebaut, in dem nur noch einzelne Bälkchen und Inseln stehen bleiben (vgl. Abb. 15). Diese Abbauvorgänge erstrecken sich bis unter die kortikale Manschette, die aber selbst nicht angegriffen wird (vgl. Abb. 15, 18). Der primäre Markraum wird nach acromial und sternal rasch bis nahe an die hyalinknorpligen Epiphysenanlagen ausgedehnt. Er ist von einem lockeren, viele, zum Teil größere Gefäße enthaltenden Bindegewebe erfüllt, in dem die oben beschriebenen vielkernigen Riesenzellen gehäuft anzutreffen sind.

Die Mandibula (Abb. 14) ist durch Apposition weiter gewachsen, wobei ab und zu eine Zelle in der Interzellularsubstanz eingeschlossen wird. Die Oberfläche der Mandibulaanlage wird von einem dichten Osteoblastensaum überzogen. Im umgebenden Bindegewebe tritt vorerst nur lateral eine Orientierung der Zellen auf, die, spindelförmig geworden, sich mit ihrer Längsachse parallel zur Oberfläche der Mandibula anordnen. Dadurch entsteht über der Osteoblastenlage ein Stratum fibrosum (Abb. 14).

Beim Embryo von 32 mm SSL, der mit Methylgrün-Pyronin gefärbt wurde, können die bis jetzt beschriebenen Gewebe auf Grund ihres besonderen färberischen Verhaltens leicht identifiziert werden: Die faserhaltige Grundsubstanz des Wabengewebes hat sich kräftig gelb-orange gefärbt, diejenige des Hyalinknorpels in den Epiphysenregionen in derselben Farbnuance, aber weniger intensiv. Die Manschette, die das Mittelstück der Schlüsselbeinanlage



11



13

12

14

umgibt und, wie gesagt, schon weit auf die Epiphysenregion übergreift, zeigt ein ganz anderes Bild: Sie ist sehr blaß rosarot getönt; die in ihr eingeschlossenen Zellen treten durch ihre intensive, leuchtend blaurote Farbe hervor (Abb. 17). Gleich gefärbt sind auch die Zellen der Kambiumschicht der Skelethülle. Die Zellen im Wabengewebe und im Hyalinknorpel haben ebenfalls dieselbe Tönung, aber weniger kräftig.

Die Knochengrundsubstanz der Mandibula ist nach Anwendung der Methylgrün-Pyronin-Methode nur sehr blaß rosarot angefärbt. Der Osteoblastensaum tritt durch seine leuchtend blaurote Farbe hervor. Die in der Grundsubstanz eingeschlossenen Zellen färben sich ebenso.

Auf Grund der Tatsache, daß sich die Interzellularsubstanz

des Wabengewebes gleich wie diejenige des Hyalinknorpels anfärbt, nennen wir das erstere «Wabenknorpel». Die Übereinstimmung zwischen der Mandibula und der Manschette ist so augenfällig, daß wir diese als perichondrale Knochenmanschette auffassen dürfen. Die bindegewebige Skelethülle ist daher sinngemäß vor dem Auftreten der Manschette als Perichondrium, nach der Bildung der Manschette als Periost zu bezeichnen. Abb. 16 zeigt die verschiedenen Anteile, nämlich Periost, perichondrale Knochenmanschette und den großblasigen Wabenknorpel im zentral-axialen Teil der Schlüsselbeinanlage nach Azanfärbung. Daß diese Namengebung korrekt ist, geht aus dem Vergleich mit Abb. 17 hervor, die von einem Methylgrün-Pyronin-gefärbten Präparat stammt.

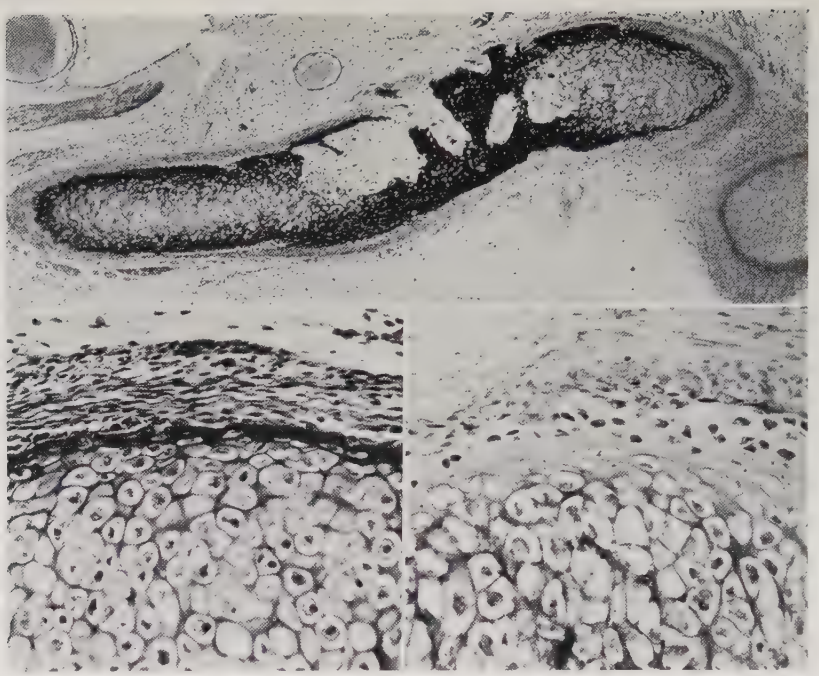
Im weiteren Verlauf der Claviculaentwicklung wird die perichondrale Manschette zunehmend dicker und greift immer mehr auf die Epiphysenregion über, sodaß die Epiphysenknorpel schließlich zapfenartig in der acromialen und sternalen Öffnung der Manschette drin stecken (Abb. 18, 22). Der Markraum wird immer noch gegen die Epiphysen hin ausgeweitet. Bei Embryonen von 68 mm SSL hat seine Ausdehnung die Grenze zwischen Wabenknorpel und epiphysialem Hyalinknorpel überschritten. In diesem Bereich haben wir dann die typische Schichtung in die verschiedenen Knorpelzonen, wie sie für die enchondrale Verknöcherung charakteristisch sind (Abb. 22). Innerhalb des Markraumes finden sich nur noch

---

*Abb. 11.* Embryo Mensch, 28 mm SSL, Riehen 1948, quer, 6 $\mu$, Azan. Vergr. 120 ×. Schnitt 345/2. Außen ist die Clavicula von einem typisch geschichteten Periost umhüllt. Darunter liegt die intensiv angefärbte perichondrale Knochenmanschette. Der Wabenknorpel ist großblasig, seine Interzellularsubstanz ist verkalkt. Zentral wird der Knorpel durch eine eindringende gefäßhaltige Bindegewebssprosse aufgelöst. Im Bereich dieser Sprosse sind zwei Chondroklasten erkennbar.

*Abb. 12 und 13.* Gleicher Embryo und gleicher Schnitt wie bei Abb. 11. – *Abb. 12.* Vergr. 450 ×. Oben im Bild das Periost mit den der dünnen Osteoidschicht anliegenden Osteoblasten. Das Osteoid ist deutlich intensiver gefärbt als die Interzellularsubstanz des darunter liegenden Wabenknorpels. – *Abb. 13.* Vergr. 370 ×. Einer der vielen Chondroklasten, die in diesem Stadium bei der Auflösung des Wabenknorpels beteiligt sind. Die dem Wabenknorpel zugewandte Oberfläche trägt einen deutlich erkennbaren Bürstensaum.

*Abb. 14.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 11. Vergr. 370 ×. Schnitt 350/1. Mandibula. Der Knochen wird allseitig von einer Osteoblastenschicht überzogen. Er ist homogen und sehr intensiv gefärbt. Die eingeschlossenen Osteocyten liegen weit auseinander und sind relativ klein. An der lateralen Seite beginnt über der Osteoblastenschicht die Ausbildung des Stratum fibrosum.



15

16 17

*Abb. 15.* Embryo Mensch, 31 mm SSL, Egli 1950, quer, 7 $\mu$, Azan. Vergr. 35 $\times$. Schnitt 381/2/1. Unter der perichondralen Knochenmanschette ist zentral ein großer primärer Markraum entstanden, der gegen beide Epiphysen zu weiter vergrößert wird. In seinem Bereich sind nur noch wenige Reste des verkalkten Wabenknorpels in Form von Bälkchen und kleinen Inseln stehen geblieben.

*Abb. 16.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 15. Vergr. 150 $\times$. Schnitt 386/1/2. Ausschnitt aus dem sternalen Drittel der Clavicula. Der verkalkte Wabenknorpel wird von der dünnen, dunkel gefärbten perichondralen Knochenmanschette überzogen. Dieser liegt von außen her das Periost mit seiner Osteoblastenschicht an.

*Abb. 17.* Embryo Mensch, 32 mm SSL, frontal, 8 $\mu$, Methylgrün-Pyronin. Vergr. 150 $\times$. Schnitt 21/1. Clavicula im sternalen Drittel. Die Grundsubstanz des Wabenknorpels ist intensiv metachromatisch gefärbt. Darüber die sehr schwach orthochromatisch getönte perichondrale Knochenmanschette. Die Osteocyten sind ihrer Basophilie wegen kräftiger angefärbt.

Reste des Wabenknorpels in Form von Bälkchen und Inseln (Abb. 23; vgl. auch Abb. 26 und 27). Das den Markraum ausfüllende Gewebe wird faserreicher (Abb. 23). Sehr oft finden sich darin neben größeren Gefäßen dünnwandige Sinus.

Die noch vorhandenen Reste des Wabenknorpels fallen bei der Thioninfärbung durch ihre sehr ausgeprägte Metachromasie auf

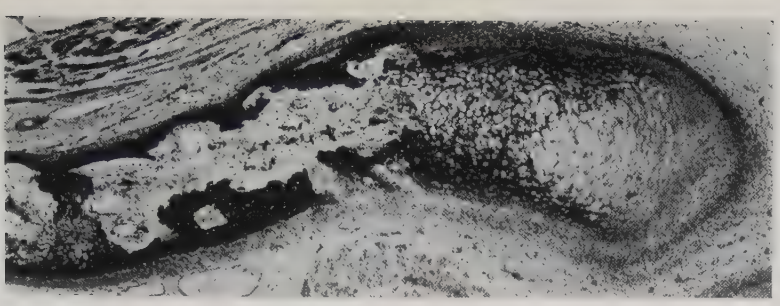


*Abb. 18.* Embryo Mensch, 38 mm SSL, 1951, quer, 8 $\mu$, Azan. Vergr. 35 $\times$. Schnitt 466/1. Der verkalkte Wabenknorpel geht kontinuierlich in den Hyalinknorpel der acromialen Claviculaepiphyse über. Der zentrale primäre Markraum hat sich enorm vergrößert. Die in ihm enthaltenen schwärzlichen Flecken sind stehengebliebene Reste des Wabenknorpels, auf denen bereits Osteoid abgelagert wird.

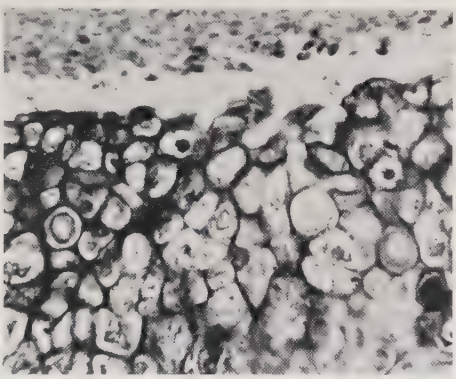
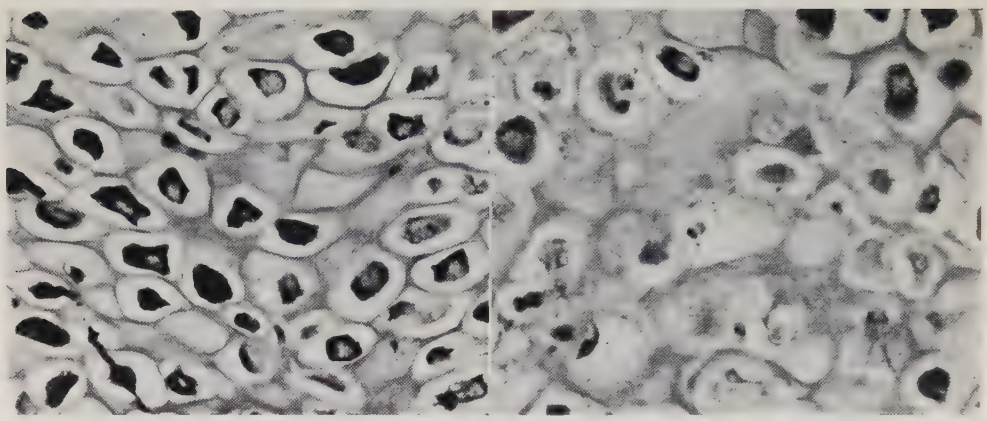


*Abb. 19.* Embryo Mensch, 42 mm SSL, isolierte Clavicula, längs, 8 $\mu$, Thionin. Vergr. 180 $\times$. Schnitt 5/3/2. Die stark metachromatisch gefärbte Interzellularsubstanz des Wabenknorpels hebt sich deutlich von der ungefärbten perichondralen Knochenmanschette ab.

und lassen sich deshalb gut gegen die ungefärbte perichondrale Knochenmanschette abgrenzen (Abb. 19). Die Tatsache, daß bei dieser Färbung die Grundsubstanz des Wabenknorpels der Clavicula viel intensiver metachromatisch angefärbt ist als diejenige von Hyalinknorpel (vgl. Abb. 24 mit Abb. 25), läßt auf die Einlagerung von Kalksalzen schließen. Dieser Vorgang beginnt zwar schon bei Embryonen von 18 mm SSL und ist durch die kräftigere Blaufärbung (bei der Azan-Methode) und granuläre Strukturierung der Interzellularsubstanz gekennzeichnet (vgl. Abb. 6).

Die Zellen des Wabenknorpels sprechen bei der PAS-Reaktion



20 21

*Abb. 20 und 21.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 19. Clavicula, längs, 8 $\mu$, PAS. Vergr. 333 $\times$. Schnitt 6/2/1. – *Abb. 20.* Hyalinknorpel der Epiphysenanlage. Das Cytoplasma der Knorpelzellen ist stark PAS-positiv. – *Abb. 21.* Wabenknorpel im Bereich der Eröffnungszone. Die Zellen besitzen, soweit sie noch nicht zugrunde gegangen sind, ein stark PAS-positives Cytoplasma. Die Intensität der Reaktion erreicht aber nicht den Grad wie beim Hyalinknorpel. Die in den Wabenknorpelhöhlen sich findenden Überreste der Zellen geben nur noch eine schwach positive PAS-Reaktion.

nicht so intensiv an wie diejenigen des Hyalinknorpels (vgl. Abb. 20 mit Abb. 21). Wenn sich regressive Veränderungen an den Zellen zeigen, wird die PAS-Reaktion beinahe negativ (Abb. 21).

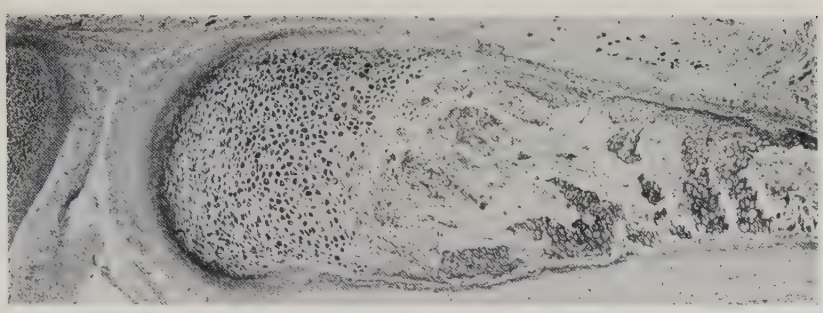
Im Bereich der perichondralen Knochenmanschette fällt bei azangefärbten Claviculae von Embryonen mit 40 mm SSL ein Farbumschlag von blau nach rot auf, was auf die Auskristallisation der Kalksalze in der Knochengrundsubstanz zurückzuführen ist.

Auf den stehengebliebenen Resten des verkalkten Wabenknorpels (Bälkchen und Inseln) im Bereich der Markhöhle siedeln sich epithelial angeordnete Zellen an, die mit der Abscheidung einer Grundsubstanz beginnen. Diese zeigt dieselben Farbreaktionen wie die perichondrale Manschette (Abb. 26, 27).

## *Diskussion*

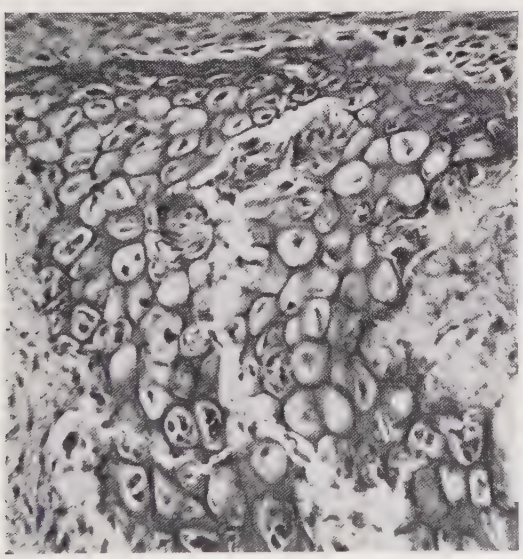
Auf Grund unserer Untersuchungen können wir die Frühentwicklung des Schlüsselbeins beim Menschen folgendermaßen zusammenfassen:

Die erste Anlage der Clavicula tritt bei Embryonen von

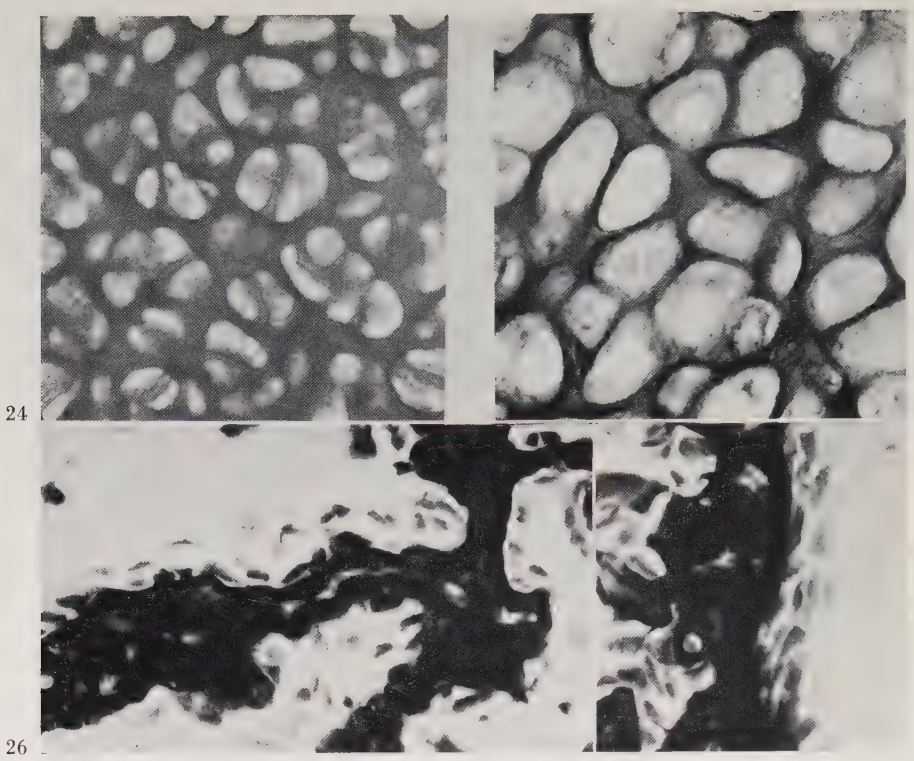


22

*Abb. 22 und 23.* Embryo Mensch, 68 mm SSL, isolierte Clavicula, längs, 8 $\mu$, PAS. Schnitt 8/2/1. – *Abb. 22.* Vergr. 35 ×. Die Ausweitung des primären Markraumes ist gegen die beiden Epiphysen so weit fortgeschritten, daß auch deren Hyalinknorpel arrodiert wurde. Im Diaphysenbereich finden sich noch Reste des verkalkten Wabenknorpels. Links im Bild ist die Articulatio sternoclavicularis sowie ein Teil des hyalinknorpligen Manubrium sterni zu sehen. – *Abb. 23.* Vergr. 180 ×. Zwei stehengebliebene Bälkchen von verkalktem Wabenknorpel, die gerade unter der hier sehr dünnen perichondralen Knochenmanschette gelegen sind. An der Oberfläche dieser Bälckchen spielen sich teils Abbauprozesse ab, teils differenzieren sich aus dem sehr zellreichen Gewebe des primären Markraumes Osteoblasten. Diese lagern sich in reihenförmiger Anordnung der verkalkten Knorpelgrundsubstanz an.



23



24 25

26 27

*Abb. 24 und 25.* Gleicher Embryo wie bei Abb. 22. Thionin. Vergr. 370 ×. Schnitt 9/3/1. – *Abb. 24.* Ausschnitt aus dem hyalinknorpligen Manubrium sterni. Die Grundsubstanz ist noch nicht verkalkt und färbt sich daher schwächer metachromatisch an als diejenige des verkalkten Wabenknorpels, die in *Abb. 25* wiedergegeben ist. Die kollagenen Fasern in der Grundsubstanz des Wabenknorpels sind deutlich erkennbar im Gegensatz zu denjenigen im Hyalinknorpel.

*Abb. 26 und 27.* Embryo Mensch, 68 mm SSL, isolierte Clavicula, längs, 8 $\mu$, Azan. Vergr. 350 ×. Schnitt 8/2/1. Auf beiden Abbildungen sind Knochenbälkchen aus dem Markraum dargestellt. Man erkennt deutlich die Osteoblastenschicht, die die Oberfläche dieser Knochenbälkchen überzieht. Im Inneren der Bälkchen finden sich Überreste der verkalkten Grundsubstanz des Wabenknorpels, die bei dieser Färbung durch ihre Helligkeit hervortreten.

12 mm SSL erstmals in Erscheinung und besteht dort aus einem einheitlichen Blastem von verdichtetem embryonalem Bindegewebe, dessen Zellen sich noch weiter vermehren.

In der Folge, bei Embryonen von 18–22 mm SSL, findet eine Differenzierung des Blastems statt: einenteils sehen wir im Zentralteil der Claviculaanlage Zellen, die durch ihre Volumzunahme und

helle, kugelige Kerne charakterisiert sind. Diese Zellen werden nach der Ausbildung eines wabenartigen Kollagenfasergerüstes und nach Absonderung einer basophilen Grundsubstanz in dieses Gerüst eingeschlossen und bilden damit den zelligen Anteil eines kontinuierlichen, zentral-axial gelegenen Gewebsstabes. Wir nennen dieses Gewebe seines besonderen Aspektes wegen «Wabenknorpel». Andernteils entsteht aus dem Blastem eine den Wabenknorpel umhüllende Randschicht, die als Perichondrium und später als Periost zu bezeichnen ist.

Die Verknöcherung beginnt bei Embryonen von 22 mm SSL mit der Ausbildung einer perichondralen Knochenmanschette und der Einlagerung von Kalksalzen in die Grundsubstanz des Wabenknorpels. Nachdem die Manschette von gefäßhaltigen Bindegewebssprossen durchbrochen worden ist, dringen diese tief in den großblasig gewordenen zentral-axialen Knorpelstab ein. So kommt es, unterstützt durch die Tätigkeit von Chondroklasten, zur Arrosion des verkalkten Wabenknorpels und damit zur Bildung eines primären Markraumes. Dieser wird in der Folge rasch gegen die inzwischen hyalinknorplig angelegten Epiphysen erweitert. Auf den in Form von Bälkchen und Inseln stehengebliebenen Resten des verkalkten Wabenknorpels lagern Osteoblasten aus dem Markraum-Füllgewebe Knochengrundsubstanz ab, wie man es beim enchondralen Ossifikationsprozeß zu sehen gewohnt ist.

Die sich später abspielenden Umbauvorgänge, wie die Ausbildung des definitiven Knochens mit Haversschen Systemen, die endgültige Formgebung und die Bildung des sekundären Markraumes laufen wie bei jedem anderen Röhrenknochen ab und sind für die Frage nach der Entstehung der Clavicula von keiner weiteren Bedeutung.

Daß die erste blastematöse Anlage der Clavicula einheitlich ist, stimmt mit den Angaben von *Bardeen und Lewis* [1901/02], *Lewis* [1901/02], *Fawcett* [1913] und *Zawisch* [1953] überein. Nur sehr kurze Zeit aber ist die Anlage des Schlüsselbeins als einfache Verdichtung embryonalen Bindegewebes vorhanden. Die histologische Differenzierung setzt rasch ein.

Innerhalb des Blastemstreifens tritt als erstes Zeichen einer Weiterdifferenzierung im Interzellularraum ein wabenartiges Kollagenfasergerüst auf. Diese Faserstrukturen entstehen inmitten des Blastems und breiten sich nach allen Richtungen, besonders schnell aber nach axial, aus. Aus unseren Befunden geht hervor, daß diese

Weiterentwicklung fast in der ganzen Länge der blastematösen Anlage gleichzeitig eintritt. Damit stimmen die Angaben von *Lewis* [1901/02] überein. *Hanson* [1920], *Fawcett* [1913], *Mall* [1906] und *Poirier* [1890] dagegen beschreiben zwei voneinander unabhängige Herde, die erst später miteinander verschmelzen. *Zawisch* [1953] gibt an, daß im Blastemstreifen sogar drei getrennte «Osteoblastenknoten» auftreten. Nach den Verhältnissen, wie wir sie bei unseren Präparaten angetroffen haben, können wir das Auftreten von mehreren Differenzierungsherden jedoch nicht bestätigen.

Gleichzeitig mit der Faserbildung nehmen die Zellen in deren Bereich an Volumen zu und runden sich ab. Sie werden einzeln oder in kleinen Gruppen in den Waben des Kollagenfasergerüstes eingeschlossen.

Bei diesen Zellen soll es sich nach den Angaben von *Zawisch* [1953] um Osteoblasten handeln, die zwischen sich eine junge, zart eosinophile und homogene Knochengrundsubstanz ausbilden. «Diese junge Grundsubstanz sieht genau so aus wie in jedem sich desmal bildenden jungen Knochensplitterchen, das sich zwischen zwei Osteoblastenlagen bildet» (*Zawisch* [1953] p. 192). Ein Kollagenfasergerüst wird von dieser Autorin nicht erwähnt. Diesen Feststellungen von *Zawisch* haben wir folgendes entgegenzuhalten:

Erstens findet sich nirgends in der einschlägigen Literatur (*Weidenreich* [1930], *Petersen* [1935], *Patten* [1953], *Hamilton, Boyd und Mossman* [1956], *Bucher* [1956]) ein Hinweis, daß sich desmaler Knochen bildet, ohne daß vorher ein grobes, kollagenfaseriges Gerüst angelegt worden ist. Wir zitieren hier nur die Angaben *Weidenreichs* [1930], p. 449: «Die bindegewebig präformierten Knochen, in denen Knorpel als Vorskelet nicht auftritt, werden in ihrer Wachstumsart und Formprägung durch die bindegewebigen Strukturen bestimmt, in denen sie sich entwickeln». Wir selbst können diese Tatsache anhand der von uns bei der Entwicklung der Mandibula erhobenen Befunde bestätigen. *Zawisch* [1953] aber beschreibt kein Fasergerüst, auch nicht bei der Entwicklung der Mandibula, die von ihr zum Vergleich mit der Claviculahistogenese bei einem Embryo aus der 5. Schwangerschaftswoche angeführt wird.

Zweitens halten wir es für sehr gewagt, auf Grund der Eosinophilie bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung, wie sie von *Zawisch* [1953] und anderen bei allen Objekten verwendet wurde, Schlüsse über den Gewebscharakter zu ziehen. *Krause* [1926] wies schon darauf hin, daß das Eosin, ein zweibasischer saurer Farbstoff, als

kleines, leicht diffusibles Molekül weitporige Substrate nicht sehr echt anfärbe: «Die Färbung ist diffus, wenig differenziert, im Sinne *v. Möllendorffs* eine ‹Durchtränkungsfärbung›. Im Sinne der chemischen Theorie gilt das Eosin als Prototyp eines Säurefarbstoffes, der nur für oxyphile Substrate chemische Affinität aufweist, daneben aber in physikalischer Weise auch andere Substrate oberflächlich und unecht anfärbt (als ‹Tünche›)» (p. 648). Und gerade bei dem Fasergerüst der Claviculaanlage haben wir ein weitporiges Gebilde vor uns, das sehr wohl mit Eosin unecht angefärbt werden kann. Diese Tünchefärbung der Interzellularsubstanz durch das Eosin dürfte wohl der Grund dafür sein, daß ihre faserige Beschaffenheit *Zawisch* entgangen ist.

Bei Embryonen von 18–22 mm SSL reift die Interzellularsubstanz des Wabenknorpels aus und zeigt Eigenschaften, die bis zu ihrem Abbau beibehalten werden. Die voluminösen im Wabenwerk enthaltenen Zellen scheiden Stoffe in die Grundsubstanz ab, die diese immer stärker basophil werden läßt.

Aus der Tatsache, daß von Zellen eine Grundsubstanz in ein Fasergerüst deponiert wird, darf aber nicht ohne weiteres geschlossen werden, daß die Clavicula als rein desmaler Knochen angelegt wird, wie dies unter anderen *Hanson* [1920] und *Fazzari* [1934] getan haben. Denn auch bei der Bildung von Knorpel haben wir zuerst ein Fasergerüst im Interzellularraum vor uns, das erst infolge der Durchtränkung mit Chondroitinschwefelsäure maskiert wird. *Petersen* [1935] drückt sich folgendermaßen aus (p. 198): «Die ‹Verknorpelung› besteht dann darin, daß Chondromukoid und Chondroitinschwefelsäure gebildet werden, die die Fibrillen einschließen und alsbald ‹maskieren›». Auch in der subperichondralen Region jedes wachsenden Hyalinknorpelstückes kann dieser Vorgang verfolgt werden.

Um zu entscheiden, ob die stark basophile Interzellularsubstanz des Wabenknorpels echte hyalinknorplige Grundsubstanz ist, oder ob es sich um Osteoid, repektive Knochengrundsubstanz handelt, müssen weitere Methoden zugezogen werden. Die folgenden Tatsachen haben uns überzeugt, daß der Wabenknorpel der menschlichen Claviculaanlage mit Sicherheit dem hyalinen Knorpelgewebe zugerechnet werden muß:

1. Die Metachromasie der Interzellularsubstanz bei Färbung mit gepufferter Thioninlösung oder mit Methylgrün-Pyronin.

2. Der Ausfall der PAS-Reaktion in der Interzellularsubstanz sowie in den Zellen.

3. Das Aussehen und das Verhalten der Zellen im Verlauf der Ossifikation.

*1. Die Metachromasie der Interzellularsubstanz*

Die Erscheinung, die wir heute als Metachromasie bezeichnen, wurde von *Cornil* [1875], *Heschl* [1875] und *Jürgens* [1875] unabhängig voneinander erstmals beschrieben. Den Begriff «Metachromasie» und seine Definition verdanken wir *Ehrlich* [1879], der sagt, daß gewisse basische Anilinfarbstoffe bestimmte Strukturen «metachromatisch, d.h. in einer von dem angewandten Farbtone abweichenden Nuance färben» (*Ehrlich* [1879] p. 167). Der physikalisch-chemische Vorgang, der dieser Reaktion zugrunde liegt, ist aber auch heute noch nicht abgeklärt (vgl. *Lison* [1953], *Pearse* [1953]).

Entsprechend den Angaben von *Gomori* [1952], *Lison* [1953] und *Kelly* [1956] steht fest, daß in erster Linie die Gruppe der sauren Mucopolysaccharide in makromolekularem Verband eine besonders klare, eindeutig metachromatische Reaktion geben. *Lison* [1953] sagt von der Metachromasie (p. 333): «De toutes les réactions des mucopolysaccharides acides, celle-ci est la plus caractéristique». Besonders aktiv sind dabei diejenigen Mucopolysaccharide, die einen oder mehrere Schwefelsäure-Ester aufweisen. Zu diesen Substanzen gehört somit vor allem auch die in der Knorpelgrundsubstanz zu 20–30% enthaltene Chondroitinschwefelsäure (*Jorpes und Yamashina* [1956]). Daher weist die Knorpelgrundsubstanz immer eine ausgeprägte Metachromasie auf.

Im Gegensatz dazu findet sich im Osteoid oder in der Knochengrundsubstanz keine oder nur eine ganz schwache metachromatische Reaktion, eine Tatsache, die schon *Ehrlich* [1877] aufgefallen ist.

In unseren Thionin- und Pyronin-gefärbten Präparaten zeigt die Grundsubstanz des Wabenknorpels eine sehr ausgeprägte Metachromasie, ebenso die hyalinknorpligen Skeletteile, wie z.B. die Sternalleisten, die Rippen und das Acromion. Die Unterkieferanlage dagegen färbt sich orthochromatisch an.

Dasselbe Verhalten können wir auch auf späteren Stadien der Claviculaentwicklung feststellen: Der Wabenknorpel wie die Epi-

physenknorpel der Clavicula sind intensiv metachromatisch gefärbt, während die diaphysäre Knochenmanschette durch die orthochromatische Farbkomponente nur ganz blaß getönt wird.

Aus diesen Tatsachen muß der Schluß gezogen werden, daß die Interzellularsubstanz des Wabenknorpels mit derjenigen von gewöhnlichem Hyalinknorpel sehr nahe verwandt, wenn nicht gar identisch sein muß.

*Zawisch* [1953] beschreibt eine «pseudochondroblastische Periode» der Schlüsselbeinhistogenese, wobei der «Pseudoknorpel» seiner Struktur nach mit unserem Wabenknorpel identisch sein dürfte. Sie rechnet diesen Pseudoknorpel aber dem hyalinzelligen Chondroidgewebe nach der Schafferschen Einteilung zu (*Schaffer* [1930]). Zur Trennung des Chondroidgewebes von echtem Hyalinknorpel verwendet *Schaffer* [1930] die Färbung mit alkoholischer gepufferter Thioninlösung: Damit färbt sich die Grundsubstanz des erstgenannten Gewebes nur graublau, also orthochromatisch, während diejenige des Hyalinknorpels kräftig rotviolett, also metachromatisch angefärbt wird. *Schaffer* [1930] schreibt wörtlich (pp. 151–152): «Bei aller Knorpelähnlichkeit zeigt das färberische Verhalten der Grundsubstanz deutliche Unterschiede von echter Knorpelgrundsubstanz. Sie färbt sich mit saurem Toluidinblau und alkoholischer Thioninlösung nur graublau». Da wir eine deutliche Metachromasie nach Färbung mit alkoholischer Thioninlösung nachweisen konnten, erscheint die Zurechnung des Wabenknorpels zu den Chondroidgeweben, wie *Zawisch* [1953] dies tut, nicht statthaft.

Ferner stellten wir fest, daß die Grundsubstanz des Wabenknorpels intensiver metachromatisch reagiert als diejenige des Hyalinknorpels der Claviculaepiphysen, des Manubrium sterni oder des Acromion (vgl. Abb. 24 mit Abb. 25). Nach den Befunden von *Rubin und Howard* [1950] beruht die intensivere metachromatische Reaktion auf der Anwesenheit von Kalksalzen. Das zeigt uns, daß in die Grundsubstanz des Wabenknorpels schon Kalksalze eingelagert werden. Wenn die Verkalkung einen gewissen Grad erreicht hat, so färbt sich das Gewebe nicht mehr metachromatisch an (*Ehrlich* [1877]), wenn nicht vor der Farbreaktion entkalkt wird (*Rubin und Howard* [1950], *Kelly* [1956]). Da wir bis zum Abbau des Wabenknorpels immer noch eine Metachromasie nachweisen konnten, kann die Verkalkung dieses Gewebes, wie das ja bei so jungen Embryonen zu erwarten ist, kein großes Ausmaß angenommen haben.

*2. Der Ausfall der PAS-Reaktion in der Interzellularsubstanz*

Die *P*(erjodic) *A*(cid) *S*(chiff)-Reaktion gibt uns die Möglichkeit, Polysaccharide, Mucopolysaccharide und Mucoproteide darzustellen (*Lison* [1953], *Pearse* [1953]). Über deren Spezifität sagt *Lison* [1953] unter anderem, daß Chondroitinschwefelsäure normalerweise nicht reaktionsfähig sei, da die reaktionsfähigen Gruppen substituiert sind. Allerdings könne die Reaktion doch eintreten, wenn bei der Hydrolyse im sauren Milieu Schwefelsäure abgespalten wird und dadurch freie Glykol-Gruppen entstehen, die positiv reagieren würden.

Wenn die Grundsubstanz des Wabenknorpels und des Hyalinknorpels der Epiphysen in unseren Präparaten dennoch PAS-positiv reagieren, ist dies wohl hauptsächlich den neben der Chondroitinschwefelsäure noch vorhandenen neutralen Mucopolysacchariden, Mucoproteiden und Glykoproteiden zuzuschreiben.

Aber auch im Osteoid und in der Knochengrundsubstanz fällt die PAS-Reaktion positiv aus, wenn auch deutlich schwächer als in den beiden erwähnten Knorpelarten.

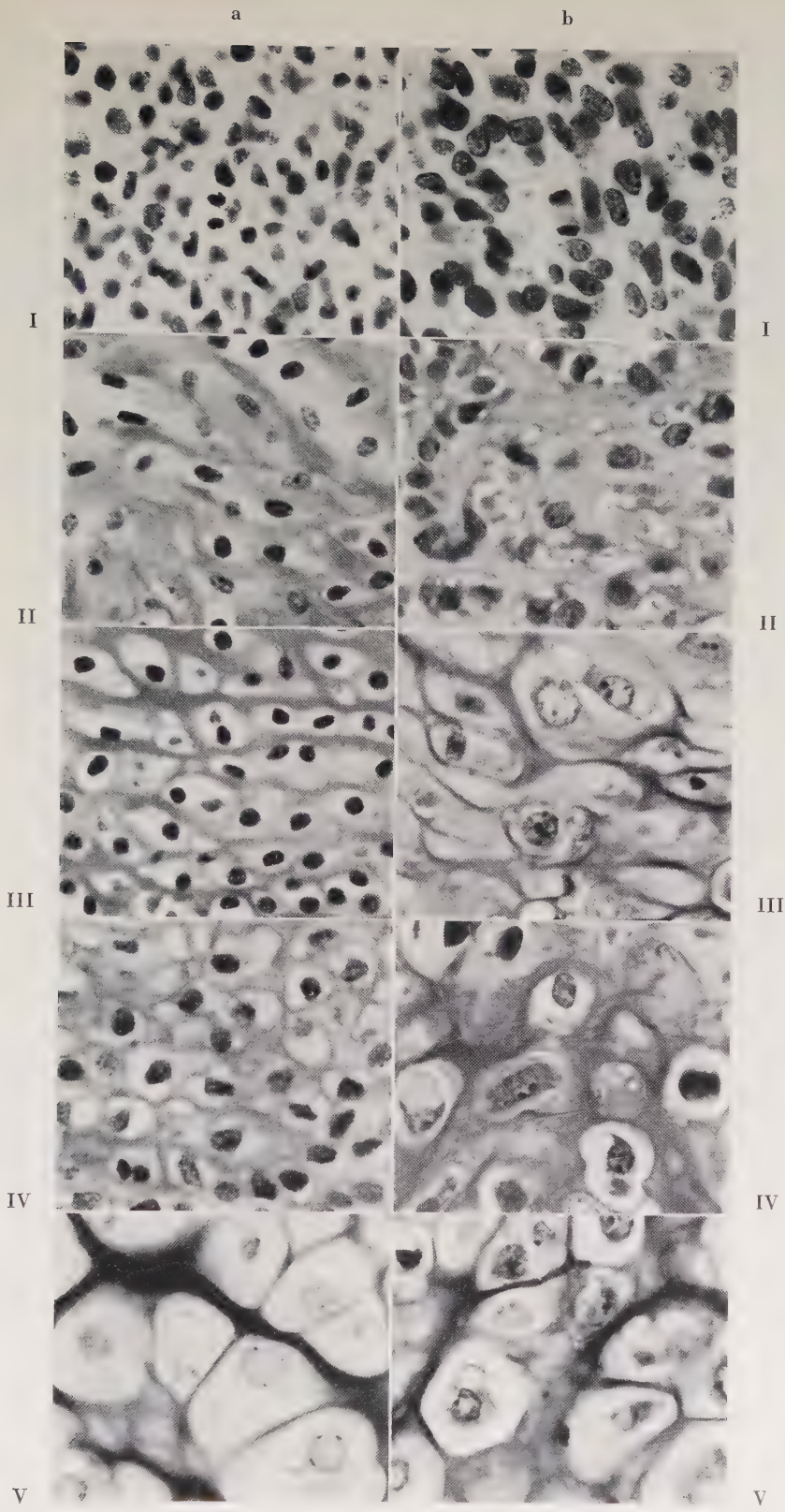
Besonders auffällig ist die Tatsache, daß sowohl im Wabenknorpel wie im Hyalinknorpel die Knorpelkapseln stärker positiv reagieren als die übrigen Interzellularsubstanzen. Die Kapseln der Osteocyten dagegen unterscheiden sich nicht von der Knochengrundsubstanz oder vom Osteoid der subperiostalen Manschette. Auch diese Differenz zwischen Knorpel- und Knochenzellkapsel zeigt eindeutig, daß der Wabenknorpel der Clavicula eine spezielle Knorpelart darstellt.

*3. Das Aussehen und das Verhalten der Zellen im Verlauf der Ossifikation*

*Streeter* hat 1949 eine ausführliche Arbeit über die Chondrogenese und die Ossifikation des Humerus beim Menschen veröffentlicht. Er beschreibt dort die Entstehung des Hyalinknorpels aus der blastematösen Anlage und seine Weiterentwicklung bis zum Abbau während des Ossifikationsprozesses. Den ganzen Ablauf dieses Geschehens teilt *Streeter* in fünf typische Phasen ein, wobei jede dieser Phasen durch ein spezielles Zellbild charakterisiert ist.

---

*Abb. 28.* Gegenüberstellung der Knorpelentstehung und -ausreifung beim Wirbelkörper (a) und bei der Clavicula (b) nach der von *Streeter* [1949] gegebenen Stadieneinteilung (I–V). Nähere Einzelheiten vgl. Text p. 204, Vergr. 520 ×.


a
b
I
I
II
II
III
III
IV
IV
V
V

Wir glauben auf Grund unserer Befunde berechtigt zu sein, ebenfalls für den Wabenknorpel in der Schlüsselbeinanlage diese fünf Phasen zu postulieren. Zum Vergleich mit dem Verhalten des Wabenknorpels in der Clavicula wählten wir fünf den Streeterschen Phasen entsprechende Stadien der Entwicklung eines Wirbelkörpers, wie wir sie in dem großen, azangefärbten Material der Basler Embryonensammlung leicht auffinden konnten.

In der *ersten Phase* differenzieren sich bei der Entstehung des Hyalinknorpels Zellen in der blastematösen Anlage unter Abkugelung ihres Zelleibes, Vakuolisierung des Cytoplasmas und Produktion von Interzellularsubstanz (Abb. 28 aI). Bei der Clavicula entspricht dies, wie unsere Befunde zeigen, den Differenzierungsvorgängen bei Embryonen von 15–18 mm SSL (Abb. 28bI). In der relativ spärlichen unstrukturierten Grundsubstanz werden in der Schlüsselbeinanlage vorerst kollagene Fasern gebildet.

In der *zweiten Phase* findet immer noch rege Zellteilung und damit eine Zellvermehrung statt. Die Zellen des Hyalinknorpels sind durch die Interzellularsubstanz noch nicht vollständig voneinander isoliert. Sie ordnen sich in dieser Phase in ungefähr parallen Reihen an, die quer zur Längsachse des entsprechenden Skeletstückes laufen (Abb. 28aII). Dies trifft nach unseren Befunden auch für die Claviculaanlage zu (Abb. 28bII).

Für die *dritte Phase* ist im Hyalinknorpel eine Vergrößerung des Zellvolumens unter gleichzeitiger starker Zunahme der Interzellularsubstanz bezeichnend (Abb. 28aIII). Diesen Vorgang können wir in der Claviculaanlage bei Embryonen von 22 mm SSL im Wabenknorpel ebenfalls feststellen (Abb. 28bIII).

In der *vierten Phase* haben die Hyalinknorpelzellen die maximale Größe erreicht, und ihr Protoplasma ist sehr stark vakuolisiert. Die Interzellularsubstanz wird stärker anfärbbar (Abb. 28aIV). Bei Embryonen von 25 mm SSL fanden wir in den äußeren Lagen des Wabenknorpels der Claviculaanlage auch entsprechende Verhältnisse (Abb. 28bIV), das zentral-axiale Gewebe hat dagegen den Übergang zur fünften Phase bereits durchgemacht.

In der *fünften Phase* setzt im Hyalinknorpel und auch im Wabenknorpel der Schlüsselbeinanlage der Zellzerfall ein (Abb. 28aV und bV). Die Zelltrümmer werden nach Eröffnung der Knorpelhöhlen abgeräumt.

Diese Zellveränderungen werden noch durch die cytochemischen Befunde bei der PAS-Reaktion ergänzt: Während der ersten

vier Phasen haben wir eine kontinuierliche Zunahme PAS-positiven Materials im Cytoplasma beider Knorpelzellarten gefunden. In der fünften Phase, beim Zellzerfall, sind die Zelltrümmer jedoch nur noch schwach PAS-positiv, d.h. auf einer Stufe, wo die Knorpelzellhöhlen gerade vor ihrer Eröffnung stehen. Besonders schön zeigen dies unsere Präparate auch für den Wabenknorpel der Claviculaanlage.

Auch das Verhalten der Zellen des Wabenknorpels weist somit eindeutig darauf hin, daß wir es mit Knorpelzellen zu tun haben. Sie zeigen die typischen Vorbereitungsstadien, die wir beim Hyalinknorpel vor Beginn der Arrosion und Osteoidbildung zu sehen gewohnt sind.

Die Verknöcherung beginnt bei Embryonen von 22 mm SSL, nachdem schon kurz vorher die Verkalkung des Wabenknorpels eingesetzt hat.

Die erste Bildung von Osteoid erfolgt als Auflagerung auf den Wabenknorpel. Auch bei der Clavicula wird, wie unsere Befunde zeigen, zuerst eine perichondrale, subperiostale Knochenmanschette geformt, wie dies schon *Goette* [1877] und *Fawcett* [1913] angegeben haben. Der histogenetische Vorgang bei dieser perichondralen Manschettenbildung entspricht genau den Verhältnissen, wie sie an langen, knorplig präformierten Extremitätenknochen im Diaphysenbereich festzustellen ist (vgl. *Knese* [1956]).

Die Auskristallisation der Kalksalze im Bereich dieser perichondralen Manschette beginnt bei Embryonen von 40 mm SSL. Ein sicheres Zeichen dafür ist der Farbumschlag bei der Azanfärbung: Das Osteoid färbt sich tiefblau, nach erfolgter Kristallitbildung wechselt die Farbe gegen rosa-rot.

Das Osteoid und die Knochengrundsubstanz färben sich mit Pyronin nur schwach orthochromatisch, mit der alkoholischen Thioninlösung gar nicht an, und sind deshalb leicht von dem metachromatisch gefärbten Wabenknorpel abzugrenzen.

Bei der Clavicula folgen gleich wie bei jedem auf Knorpelgrundlage ossifizierenden Röhrenknochen nach Bildung der perichondralen Manschette die enchondralen Verknöcherungsvorgänge.

Eine unbedingte Voraussetzung für das Eintreten der enchondralen Verknöcherung ist neben der Ausbildung einer perichondralen Manschette die Einlagerung von Kalksalzen in die Knorpelgrundsubstanz (*Bloom und Bloom* [1940]). Unsere Befunde zeigen deutlich, daß schon beim Embryo von 18 mm SSL die Ver-

kalkung der Knorpelgrundsubstanz beginnt. Dafür spricht die intensivere Färbung mit Anilinblau bei der Azanfärbung sowie die feine Körnelung der vorher hyalinen Grundsubstanz. Die Bestätigung dieser Angaben finden wir bei *Mall* [1906], der bei einem 20-mm-Embryo die Anlage der Clavicula als «as composed of a peculiar cartilage with a deposit of granules between the cells» beschreibt. Auch *Toldt* [1882] weist schon auf die Verkalkung der Knorpelgrundsubstanz vor Auftreten der enchondralen Ossifikationsprozesse in der Clavicula hin. *Zawisch* [1953] dagegen negiert die Verkalkung des «Pseudoknorpels».

Die perichondrale Knochenmanschette wird nun an mehreren Stellen von embryonalen gefäßhaltigen Bindegewebssprossen vom Periost her durchbrochen. Diese Sprossen dringen im Diaphysenbereich tief in den großblasigen verkalkten Wabenknorpel ein und arrodieren ausgedehnte Bezirke, wie dies auch für den Humerus von *Streeter* [1949] beschrieben worden ist. Etwas später, etwa bei Embryonen von 28 mm SSL, finden sich als Zeichen des intensiven Abbauvorganges massenhaft vielkernige Riesenzellen. Diese liegen mit ihrem Bürstensaum der verkalkten Grundsubstanz des Wabenknorpels dicht an, brechen noch vorhandene Knorpelzellhöhlen auf und sind deshalb als Chondroklasten zu bezeichnen. Diese Befunde werden durch *Florentain und Castelain* [1935] bestätigt.

Die Bildung des primären Markraumes durch chondroklastischen Abbau des verkalkten Wabenknorpels geht sehr schnell vor sich. Schon nach kurzer Zeit sind von der ganzen, ursprünglich aus einem Stück bestehenden Knorpelmasse, die von der perichondralen Knochenmanschette umfaßt wird, nur noch Reste in Form von Bälkchen und Inseln übrig geblieben.

In späteren Stadien differenzieren sich aus dem primären Knochenmark Osteoblasten, die sich epithelartig den Oberflächen der stehengebliebenen Wabenknorpelbälkchen und -inseln anlagern. Sie beginnen mit der Osteoidbildung. Nach der Auskristallisierung der Kalksalze weist dieses Material bei Azanfärbung die für Knochengrundsubstanz charakteristische rosarote Farbe auf. Im Inneren der Knochenbälkchen finden sich aber immer noch Überreste verkalkter Knorpelgrundsubstanz.

Eine «freie endostale Knochenbildung», bei der in den Maschen eines sehr dichten Kapillarnetzes Knochengrundsubstanz gebildet wird, wie dies *Zawisch* [1953] beschreibt, konnten wir in unseren Präparaten nirgends finden. Immer sind es Reste von verkalktem

Wabenknorpel, die von Osteoblasten in Knochen eingeschlossen werden.

Ungefähr gleichzeitig mit der Ausbildung der perichondralen Knochenmanschette beginnt in den dem Wabenknorpel aufsitzenden sternalen und acromialen Blastemen die Differenzierung der hyalinknorpligen Epiphysen. Der Übergang des diaphysären Wabenknorpels in die beiden hyalinknorpligen Epiphysen ist allmählich, es findet sich keine scharfe Grenze. Die perichondrale Knochenmanschette erstreckt sich sehr bald auch auf die diaphysenwärts gelegenen Teile der Epiphysenknorpel. Diese stecken schließlich wie Zapfen in der acromialen und sternalen Öffnung der Knochenmanschette, wie man es auch bei Röhrenknochen vor dem Auftreten der Epiphysenkerne zu sehen gewohnt ist.

Es stellt sich nun noch die Frage, warum bei der Claviculaentwicklung diese spezielle Knorpelart, die wir als Wabenknorpel bezeichnet haben, auftritt und warum nicht wie bei den übrigen knorplig vorgebildeten Skeletstücken Hyalinknorpel gebildet wird. Schon *Toldt* [1882] ist die Spärlichkeit der hyalinen Grundsubstanz in diesem Knorpel aufgefallen. Wir selbst haben überdies festgestellt, daß die kollagenen Fasern in der Grundsubstanz nicht vollständig maskiert werden. Dies beruht wahrscheinlich darauf, daß infolge der frühzeitigen Schienung des Wabenknorpels durch eine perichondrale Knochenmanschette das intussuszeptionelle Wachstum dieses Knorpels unterdrückt wird. Erst durch das intussuszeptionelle Wachstum jedoch kann so viel Chondroitinschwefelsäure in die Grundsubstanz eingelagert werden, daß eine vollständige Maskierung der kollagenen Fasern auftritt (*Petersen* [1935]). Diese Ausreifung des Knorpels ist aber bei der Clavicula wegen der Schnelligkeit der perichondralen wie der enchondralen Ossifikationsprozesse gar nicht möglich. Nur im Bereich der Epiphysen, wo die Verknöcherung nicht so rasch abläuft, kann deshalb echter Hyalinknorpel gebildet werden. Aus diesem Grund dürfen die hyalinknorpligen Epiphysen der Clavicula auch nicht als Sekundärknorpel bezeichnet werden, wie dies unter anderem *Schaffer* [1930] tut.

Wichtige Hinweise, die uns zum Verständnis der Chondrogenese und Ossifikation bei der menschlichen Clavicula sehr bedeutend scheinen, finden wir in einer kürzlich erschienenen Arbeit von *Pauwels* [1960]. Die meisten Forscher geben an, daß Druck, Zug und Schub als mechanische Kräfte die Hauptrolle bei der Differenzierung der Stützgewebe spielen. *Pauwels* dagegen konnte zeigen,

daß Dehnung als wichtiges auslösendes Moment zur Bildung kollagener Fasern und der hydrostatische Druck innerhalb eines von einer festen Wandung umschlossenen Blastems als Voraussetzung zur Bildung und Ausreifung von Knorpelgewebe entscheidend sind.

Für den Entwicklungsgang der Clavicula, wie er von uns beschrieben wurde, ergeben sich daraus folgende Schlüsse:

1. Die Ausbildung des kollagenfaserigen Wabengerüstes in der frühembryonalen, blastematösen Anlage wird dadurch in Gang gebracht, daß das intensive Längenwachstum in Richtung der späteren Knochenachse das Entstehen von Dehnungskräften mit sich bringt. Diese wirken als spezifische Reize einerseits auf die Blastemzellen, die sich vorwiegend parallel und longitudinal anordnen, andererseits lösen sie aber auch die Entstehung von kollagenem Fasermaterial, der Grundlage des Wabengerüstes, aus und unterhalten deren Weiterbildung.

2. Wie wir schon mehrfach betonten, wird die Claviculaanlage noch vor der vollständigen Ausreifung des Knorpels schon von einer perichondralen, subperiostalen Manschette im Bereich ihrer Diaphyse umgeben. Das in diesem starren Mantel eingeschlossene knorplige Anlagematerial unterliegt mithin einem gewissen hydrostatischen Druck, der, wie *Pauwels* angibt, die Ausreifung und somit die Entstehung großblasiger Knorpelzellen wesentlich beeinflußt und fördert.

Sind diese Differenzierungsvorgänge abgeschlossen, was bei der Schlüsselbeinanlage sehr bald der Fall ist, so steht dem Einsetzen der enchondralen Ossifikation nichts mehr im Wege.

Wenn wir abschließend die Frühentwicklung der Clavicula betrachten, so dürften wohl keine Zweifel mehr bestehen, daß von einer rein desmalen (*Hanson* [1920], *Fazzari* [1934]) oder einer gemischten, d.h. desmalen und chondralen Verknöcherung der Clavicula beim Menschen (*Fitzwilliams* [1910], *Corning* [1925], *Bonnet und Peter* [1929] et al.) zu Recht nicht mehr gesprochen werden darf.

Herrn PD Dr. *K. S. Ludwig*, Prosektor an der Basler Anatomie, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung diese Arbeit entstanden ist, möchte ich auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank für sein Entgegenkommen und seine Bemühungen aussprechen.

*Zusammenfassung*

Gestützt auf Untersuchungen an azangefärbten Serien menschlicher Embryonen von 12 bis 38 mm SSL und an selbst verarbeiteten isolierten Claviculae mensch-

licher Embryonen von 40 bis 68 mm SSL konnte mit Hilfe der Metachromasie bei Thionin- und Methylgrün-Pyronin-Färbung, der PAS-Reaktion und des Zellverhaltens gezeigt werden, daß die Clavicula beim Menschen rein knorplig präformiert ist. Der zuerst entstehende Knorpel hat wegen der sehr frühzeitig einsetzenden Verknöcherungsvorgänge keine Zeit, vollständig auszureifen. Er ist daher charakterisiert durch die Armut an Interzellularsubstanz und seinen Zellreichtum. Wir haben ihn als Wabenknorpel bezeichnet. Die Knochenbildung verläuft wie bei hyalinknorplig vorgebildeten Skeletstücken auch bei der Clavicula perichondral und enchondral.

*Summary*

Azan stained serial sections of human embryos of 12 to 38 mm crown-rump length as well as clavicula which were isolated from embryos of 40 to 68 mm crown-rump length and stained with thionin, methyl green-pyronin and the PAS-reaction were examined. The histochemical reactions and the cytoarchitecture revealed that the human clavicula is preformed in cartilage. The cartilage which is first laid down cannot mature completely because ossification processes start very early. It is therefore characterised by a sparcity of intercellular substance and cellular abundance. We have therefore called it «Wabenknorpel» (honey-comb cartilage). In the clavicula, bone formation occurs like in other skeletal parts which are first laid down in hyalin cartilage i.e., perichondrally and enchondrally.

*Résumé*

Les recherches de l'auteur ont porté sur des coupes sériées d'embryons humains de 12–38 mm, colorées par le procédé à l'Azan, ainsi que sur des clavicules isolées d'embryons humains de 40–68 mm, colorées à la thionine, au vert de méthylepyronine et au PAS. En prenant en considération le résultat de ces colorations et l'étude particulière des cellules, on peut démontrer que chez l'homme l'ébauche de la clavicule est purement cartilagineuse. Le cartilage primordial ne se développe pas entièrement parce que les processus d'ossification qui interviennent très tôt ne lui laissent pas le temps de parvenir à maturité. C'est pourquoi ce cartilage est caractérisé par le faible développement de sa substance fondamentale et l'abondance de ses cellules. L'auteur le dénomme «Wabenknorpel» (cartilage aréolaire). L'ossification s'effectue dans la clavicule, comme dans les autres pièces squelettiques à ébauches cartilagineuse, selon le mode périchondral et enchondral.

## LITERATUR

*Albinus, B.S.:* Icones ossium foetus humani. Accedit osteogeniac brevis historia (Verbeek, Leidae batav. 1737).

*Bardeen, Ch.R. and Lewis, W.H.:* Development of the limbs, body-wall and back in man. Amer. J. Anat. *1:* 1–36 (1901/02).

*Bloom, W. and Bloom, M.A.:* Calcification of developing bones in embryonic and newborn rats. Anat. Rec. *78:* 497–514 (1940).

*Bonnet, R. und Peter, K.:* Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte; 5. Aufl. (Parey, Berlin 1929).

*Braus, H.:* in *Hertwigs* Hb. d. vergleich. und exper. Entwicklungslehre der Wirbeltiere, vol. 3/II, pp. 167–336 (Fischer, Jena 1906).

*Bruch, C.:* Über die Entwickelung der Clavicula und die Farbe des Blutes (Briefliche Mittheilung an *A. Kölliker*). Z. wiss. Zool. *4:* 371–376 (1853).

*Bucher, O.:* Histologie und mikroskop. Anatomie des Menschen; 2. Aufl. (Huber, Bern 1956).

*Clara, M.:* Entwicklungsgeschichte des Menschen; 4. Aufl. (Quelle und Meyer, Heidelberg 1949).

*Cornil, V.:* Sur la dissociation du violet de méthylaniline et sa séparation en deux couleurs sous l'influence de certains tissues normaux et pathologiques, en particulier par les tissues en dégénérescence amyloide. C. R. Acad. Sci. *80:* 1288–1291 (1875).

*Corning, H. K.:* Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen; 2. Aufl. (Bergmann, München 1925).

*Eggeling, H.:* Clavicula, Praeclavium, Halsrippen und Manubrium sterni. Anat. Anz. *29:* 99–110 (1906).

*Ehrlich, P.:* Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbung und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. mikr. Anat. *13:* 263–277 (1877).

— Beiträge zur Kenntnis der granulirten Bindegewebszellen und der eosinophilen Leukocythen. Arch. Anat. Physiol., physiol. Abt. *3:* 166–169 (1879).

— Über die specifischen Granulationen des Blutes. Arch. Anat. Physiol., physiol. Abt. *3:* 571–579 (1879).

*Fawcett:* The development and ossification of the human clavicle. J. Anat., Lond. *47:* 225–234 (1913).

*Fazzari, I.:* Lo sviluppo della clavicola nell'uomo. Arch. ital. Anat. Embriol. *32:* 575–601 (1934).

*Feremutsch, K.:* Die Histogenese der Schlüsselbeinentwicklung; untersucht an Embryonen von Microcebus murinus; med. Diss. (Bern 1946).

*Fischel, A.:* Lehrb. d. Entwicklung des Menschen (Springer, Wien 1929).

*Fitzwilliams, D. C. L.:* Hereditary cranio-cleido-dysostosis. Lancet *ii:* 1466–1475 (1901).

*Florentain, P. et Castelain, G.:* Recherches histologiques sur le mécanisme de l'ossification de la clavicule humaine. C. R. Soc. Biol. *118:* 1545–1548 (1935).

*Gegenbaur, C.:* Ein Fall von erblichem Mangel der Pars acromialis Claviculae mit Bemerkungen über die Entwickelung der Clavicula. Jena. Z. Med. *1:* 1–16 (1864).

— Lehrbuch der Anatomie des Menschen; 1. Aufl. (Engelmann, Leipzig 1883).

*Goette, A.:* Beiträge zur vergleichenden Morphologie des Skeletsystems der Wirbelthiere. Arch. mikr. Anat. *14:* 502–620 (1877).

*Gomori, G.:* Microscopic Histochemistry (The Univ. of Chicago Press, Chicago 1952).

*Hamilton, W. J.; Boyd, J. D. and Mossman, H. W.:* Human Embryology; 2nd Ed. (Heffer and Sons Ltd., Cambridge 1956).

*Hanson, F. B.:* The history of the earliest stages in the human clavicle. Anat. Rec. *19:* 309–325 (1920).

*Hartmann, A.:* Zur Entwicklung des Bindegewebsknochens. Arch. mikr. Anat. *76:* 253–287 (1910).

*Hertwig, O.:* Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Wirbeltiere; 8. Aufl. (Fischer, Jena 1906).

*Heschl, R.:* Eine hübsche a-vista-Reaktion auf amyloid degenerirte Gewebe. Wien. med. Wschr. *32:* 714–715 (1875).

*Hultkrantz, J.W.:* Über congenitalen Schlüsselbeindefect und damit verbundene Schädelanomalien. Anat. Anz. *15:* 237–241 (1899).

*Jorpes, E. und Yamashina, J.:* Die Mucopolysaccharide und Glykoproteide des menschlichen Bindegewebes; in: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Knochengewebe, pp. 25–53 (Springer, Berlin 1956).

*Jürgens, R.:* Eine neue Reaktion auf Amyloidkörper. Virchows Arch. *65:* 189–196 (1875).

*Keibel, F. und Mall, F. P.:* Handbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen; vol. 1 (Hirzel, Leipzig 1910).

*Kelly, J.W.:* The metachromatic Reaction; in: *Heilbrunn und Webers* Protoplasmalogia, Handbuch der Protoplasmaforschung, vol. II/D2, pp. 3–98 (Springer, Wien 1956).

*Klinger, H. P. and Ludwig, K. S.:* A universal stain for the sex-chromatin body. Stain Technol. *32:* 235–244 (1957).

*Knese, K.H.:* Die periostale Osteogenese und Bildung der Knochenstruktur bis zum Säuglingsalter. Z. Zellforsch. *44:* 585–643 (1956).

— Die diaphysäre chondrale Osteogenese bis zur Geburt. Z. Zellforsch. *47:* 80–113 (1957).

*Kollmann, J.:* Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen (Fischer, Jena 1898).

*Krause, R.:* Enzyklopädie der Mikroskopischen Technik; 3. Aufl. (Urban und Schwarzenberg, Berlin 1926).

*Krause, W.:* in *v. Bardelebens* Hb. d. Anatomie des Menschen, vol. 1/3 (Fischer, Jena 1909).

*Kulczycki, W.:* Zur Entwicklungsgeschichte des Schultergürtels bei den Vögeln mit besonderer Berücksichtigung des Schlüsselbeines. Anat. Anz. *19:* 577–590 (1901).

*Lacroix, P.:* L'organisation des os (Desoer, Liège 1949).

*Lewis, W.H.:* The development of the arm in man. Amer. J. Anat. *1:* 145–185 (1901/02).

*Lison, L.:* Histochimie et Cytochimie Animales; 2e Ed. (Gauthier-Villars, Paris 1953).

*Mall, F.P.:* On ossification centers in human embryos less than one hundred days old. Amer. J. Anat. *5:* 433–458 (1906).

*McLean, F.C. and Bloom, W.:* Calcification in normal growing bone. Anat. Rec. *78:* 333–352 (1940).

*Müller, Chr.:* Zur Entwicklung des menschlichen Brustkorbes. Morph. Jb. *35:* 591–696 (1906).

*Patten, B. M.:* Human Embryology; 2nd Ed. (McGraw-Hill Book Co. Inc., New York 1953).

*Pauwels, F.:* Eine neue Theorie über den Einfluß mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe. Z. Anat. EntwGesch. *121:* 478–515 (1960).

*Pearse, E.A.G.:* Histochemistry, theoretical and applied (Churchill, London 1953).

*Petersen, H.:* Histologie und mikroskopische Anatomie (Bergmann, München 1925).

*Poirier, P.:* La clavicule et ses articulations. J. Anat., Paris *26:* 81–103 (1890).

*Portmann, A.:* Vergleichende Morphologie der Wirbeltiere (Schwabe, Basel 1948).

*Rauber-Kopsch, Fr.:* Lehrbuch der Anatomie des Menschen; vol. 1, 16. Aufl. (Thieme, Leipzig 1940).

*Richman, I.M.; Gelfand, M. and Hill, S.M.:* A method of decalcifying bone for histologic section. Arch. Path. *44:* 92–95 (1947).

*Romeis, B.:* Mikroskopische Technik; 15. Aufl. (Leibniz, München 1948).

*Rubin, P.S. and Howard, J.E.:* Histochemical studies on the role of acid mucopolysaccharides in calcifiability and calcification. Trans. Macy Found., Second Conference on Metabolic Interrelations, pp. 155–166 (New York 1950).

*Spalteholz, W.:* Handatlas der Anatomie des Menschen; vol. 1, 14. Aufl. (Hirzel, Leipzig 1939).

*Schaffer, J.:* Die Verknöcherung des Unterkiefers und die Metaplasiefrage. Arch. mikr. Anat. *32:* 266–377 (1888).

— Die Stützgewebe; in *v. Moellendorffs* Hb. d. mikr. Anatomie des Menschen, vol. II/2, pp. 1–390 (Springer, Berlin 1930).

*Streeter, G.L.:* Developmental horizons in human embryos (fourth issue). A review of the histogenesis of cartilage and bone. Contr. Embryol. Carneg. Inst. *33:* 149–168 (1949).

*Todd, T.W.:* A preliminary communication on the development and growth of bone and the relations thereto of the several histological elements concerned. J. Anat., Lond. *47:* 177–188 (1913).

*Toldt, C.:* Die Knochen in gerichtsärztlicher Beziehung; in *Maschkas* Hb. der gerichtlichen Medizin, vol. 3, pp. 483–585 (Tübingen 1882).

*Wassermann, F.:* Über die strukturellen Grundlagen der Chemie und des Stoffwechsels der Stützsubstanzen; in: Chemie und Stoffwechsel von Binde- und Knochengewebe, pp. 1–24 (Springer, Berlin 1956).

*Weidenreich, F.:* Das Knochengewebe; in *v. Moellendorffs* Hb. d. mikr. Anatomie des Menschen, vol. II/2, pp. 391–520 (Springer, Berlin 1930).

*Zaaijer, J.J.P.:* The effect of epithelium on the in vitro development of embryonic limb-bones of human origin. Proc. kon. nederl. Akad. Wet. *C 61:* 255–264 (1958).

*Zawisch, C.:* Die frühe Histogenese der menschlichen Clavicula. Z. mikr.-anat. Forsch. *59:* 187–226 (1953).

*Zeiger, K.:* Physikochemische Grundlagen der histologischen Methodik (Steinkopff, Dresden 1938).

Eingegangen 9. November 1959

Adresse des Autors: A. R. Koch, cand. med., Anatomisches Institut, Pestalozzistraße 20, *Basel.*